

**Aus dem Medizinischen Zentrum für Radiologie
Diagnostische und interventionelle Radiologie
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. Andreas H. Mahnken**

**des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg
in Zusammenarbeit mit dem Universitätsklinikum Gießen und
Marburg GmbH, Standort Marburg**

**Entstehung und Reparatur von
DNA–Doppelstrangbrüchen
bei computertomographischen
Untersuchungen
in Bezug zum Patientenalter**

**Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der
gesamten Humanmedizin
dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von**

**Daniel Schmitz-Beuting aus Herdecke
Marburg, 2019**

**Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg
am: 10.04.2019**

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs.

Dekan: Prof. Dr. med. Helmut Schäfer

Referent: Prof. Dr. med. Dr. rer. physiol. Johannes T. Heverhagen

Korreferent: Prof. Dr. med. Markus Luster

Originaldokument gespeichert auf dem Publikationsserver der
Philipps-Universität Marburg
<http://archiv.ub.uni-marburg.de>



Dieses Werk bzw. Inhalt steht unter einer
Creative Commons
Namensnennung
Keine kommerzielle Nutzung
Weitergabe unter gleichen Bedingungen
3.0 Deutschland Lizenz.

Die vollständige Lizenz finden Sie unter:
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/de/>

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|---|----------|
| 1 | Einleitung..... | 9 |
| 1.1 | Medizinische Versorgung bei alternder Bevölkerung..... | 9 |
| 1.1.1 | Medizinische Versorgung und demographischer Wandel..... | 9 |
| 1.1.2 | Röntgenologische Verfahren bei alternder Bevölkerung..... | 10 |
| 1.2 | Natürliche und zivilisatorische Strahlenexposition..... | 11 |
| 1.2.1 | Natürliche Strahlenexposition..... | 11 |
| 1.2.2 | Zivilisatorische Strahlenexposition..... | 11 |
| 1.2.3 | Medizinische Anwendung ionisierender Strahlung..... | 13 |
| 1.3 | Medizinische Nutzung von Röntgenstrahlung..... | 14 |
| 1.3.1 | Entdeckung der Röntgenstrahlung..... | 14 |
| 1.3.2 | Aufbau einer Röntgenanlage..... | 15 |
| 1.3.3 | Entstehung eines Röntgenbildes..... | 15 |
| 1.3.4 | Computertomographie..... | 16 |
| 1.4. | Ionisierende Strahlung..... | 18 |
| 1.4.1 | Arten ionisierender Strahlung..... | 18 |
| 1.4.2 | Alphastrahlung..... | 19 |
| 1.4.3 | Betastrahlung..... | 19 |
| 1.4.4 | Gammastrahlung und Röntgenstrahlung..... | 20 |
| 1.4.5 | Charakteristische Röntgenstrahlung..... | 21 |
| 1.4.6 | Röntgenbremsstrahlung..... | 21 |
| 1.5 | Wirkungen von Röntgenstrahlung auf Materie..... | 22 |
| 1.5.1 | Photoelektrischer Effekt..... | 22 |
| 1.5.2 | Compton-Effekt..... | 23 |
| 1.5.3 | Paarbildung..... | 24 |
| 1.5.4 | Strahlendosis..... | 24 |
| 1.6 | Entstehung und Reparatur von Strahlenschäden..... | 25 |
| 1.6.1 | Einteilung von Strahlenschäden..... | 25 |

| | |
|---|-----------|
| 1.6.2 Wirkungen von Röntgenstrahlung auf menschliches Gewebe..... | 26 |
| 1.6.3 Wirkungen von Röntgenstrahlung auf molekularer Ebene..... | 27 |
| 1.6.4 Wirkungen von Röntgenstrahlung auf die DNA..... | 27 |
| 1.6.5 Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen..... | 28 |
| 1.6.6 Nachweismethoden von DNA-Doppelstrangbrüchen..... | 31 |
| 2 Ziel der Untersuchung..... | 34 |
| 3 Material und Methoden..... | 36 |
| 3.1 Material..... | 36 |
| 3.1.1 Puffer und Medien..... | 36 |
| 3.1.2 Häufig verwendete Chemikalien..... | 37 |
| 3.1.3 Antikörper und Fluoreszenzfarbstoffe..... | 37 |
| 3.1.4 Blutentnahmematerialien..... | 38 |
| 3.1.5 Sonstige Materialien..... | 39 |
| 3.1.6 Geräte..... | 39 |
| 3.1.7 Software..... | 41 |
| 3.2 Methoden..... | 42 |
| 3.2.1 Versuchsgrundlage..... | 42 |
| 3.2.2 Ethikantrag..... | 42 |
| 3.2.3 Einschlusskriterien..... | 43 |
| 3.2.4 Ausschlusskriterien..... | 43 |
| 3.2.5 Aufklärung und Einverständnis..... | 43 |
| 3.2.6 Einteilung in Altersgruppen..... | 44 |
| 3.2.7 Datenerhebung..... | 44 |
| 3.2.8 Computertomographie..... | 45 |
| 3.2.9 Probengewinnung..... | 45 |
| 3.2.10 Probentransport..... | 46 |
| 3.2.11 Dichtegradientenzentrifugation..... | 46 |
| 3.2.12 Zentrifugations- und Waschschr | 47 |

| | |
|---|-----------|
| 3.2.13 Bestimmung der Zelldichte..... | 48 |
| 3.2.14 Methanolfixierung..... | 49 |
| 3.2.15 Immunfluoreszenz..... | 49 |
| 3.2.16 Mikroskopische Auswertung..... | 50 |
| 3.2.17 Normierung auf ein einheitliches Dosislängenprodukt..... | 50 |
| 4 Ergebnisse..... | 52 |
| 4.1 Daten der CT-Untersuchungen und Patientendaten..... | 52 |
| 4.1.1 Art der CT-Untersuchungen..... | 52 |
| 4.1.2 Resultierende Strahlenintensität..... | 53 |
| 4.1.3 Altersstruktur der Patienten..... | 53 |
| 4.1.4 Geschlechterverteilung..... | 53 |
| 4.1.5 Patientendaten..... | 53 |
| 4.2 Y-H2AX-Foci nach Computertomographie als quantitativer Nachweis von DNA-Doppelstrangbrüchen..... | 54 |
| 4.2.1 Y-H2AX-Foci in der Fluoreszenzmikroskopie..... | 54 |
| 4.2.2 Y-H2AX-Foci aller Patienten..... | 56 |
| 4.2.3 Mittelwert der y-H2AX-Foci aller Patienten..... | 58 |
| 4.2.4 Y-H2AX-Foci aller Patienten, normiert auf ein Dosislängenprodukt von 1000 mGy * cm..... | 61 |
| 4.2.5 Mittelwert der y-H2AX-Foci aller Patienten, normiert auf ein Dosislängenprodukt von 1000 mGy * cm..... | 63 |
| 4.3 Einfluss des Alters auf die Entstehung von y-H2AX-Foci und deren Reparatur..... | 66 |
| 4.3.1 Mittelwerte der y-H2AX-Foci der Patienten pro Altersgruppe zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5..... | 66 |
| 4.3.2 Altersgruppe 20 bis 29 Jahre..... | 69 |
| 4.3.3 Altersgruppe 30 bis 39 Jahre..... | 71 |
| 4.3.4 Altersgruppe 40 bis 49 Jahre..... | 73 |
| 4.3.5 Altersgruppe 50 bis 59 Jahre..... | 75 |

| | |
|---|------------|
| 4.3.6 Altersgruppe 60 bis 69 Jahre..... | 78 |
| 4.3.7 Altersgruppe 70 bis 79 Jahre..... | 80 |
| 4.3.8 Altersgruppe 80 bis 89 Jahre..... | 82 |
| 4.4 Abweichung der γ -H2AX-Foci der Patienten pro Altersgruppe, zu den Zeitpunkten t 2 bis t 5, vom Mittelwert der Patienten pro Altersgruppe zum Zeitpunkt t 1, in Prozent..... | 85 |
| 4.5 Abweichung der γ -H2AX-Foci der Patienten pro Altersgruppe, zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5, von den Mittelwerten aller Patienten zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5, in Prozent..... | 87 |
| 4.6 Abweichung der γ -H2AX-Foci der Patienten pro Altersgruppe, zum Zeitpunkt t 1, vom Mittelwert aller Patienten zum Zeitpunkt t 1, in Prozent..... | 90 |
| 4.7 Abweichung der γ -H2AX-Foci der Patienten pro Altersgruppe, zum Zeitpunkt t 2, vom Mittelwert aller Patienten zum Zeitpunkt t 2, in Prozent..... | 93 |
| 4.8 Abweichung der γ -H2AX-Foci der Patienten pro Altersgruppe, zum Zeitpunkt t 5, vom Mittelwert aller Patienten zum Zeitpunkt t 5, in Prozent..... | 96 |
| 5 Diskussion..... | 100 |
| 5.1 Nachweis der Entstehung und Reparatur von DNA- Doppelstrangbrüchen durch ionisierende Strahlung im Niedrigdosisbereich mittels der γ -H2AX-Methode..... | 100 |
| 5.1.1 γ -H2AX-Methode als Goldstandard..... | 100 |
| 5.1.2 Limitationen der γ -H2AX-Methode..... | 101 |
| 5.1.3 Vergleich Zeitpunkt t 1 mit der Literatur..... | 103 |
| 5.1.4 Vergleich Zeitpunkt t 2 mit der Literatur..... | 105 |
| 5.1.5 Vergleich Zeitpunkte t 3 bis t 5 mit der Literatur..... | 108 |
| 5.2 Einfluss des Patientenalters auf die Entstehung und Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen durch ionisierende Strahlung im Niedrigdosisbereich..... | 110 |

| | |
|---|------------|
| 5.2.1 Vergleich der Altersgruppen zum Zeitpunkt t 1 mit der Literatur..... | 110 |
| 5.2.2 Vergleich der Altersgruppen zum Zeitpunkt t 2 mit der Literatur..... | 112 |
| 5.2.3 Vergleich der Altersgruppen zum Zeitpunkt t 5 mit der Literatur..... | 113 |
| 5.3 Ausblick..... | 115 |
| Literaturverzeichnis..... | 119 |
| Anhang..... | 133 |
| Abkürzungsverzeichnis..... | 135 |
| Zusammenfassung..... | 138 |
| Summary..... | 140 |
| Verzeichnis der akademischen Lehrer..... | 142 |
| Danksagung..... | 143 |

1 Einleitung

1.1 Medizinische Versorgung bei alternder Bevölkerung

1.1.1 Medizinische Versorgung und demographischer Wandel

Eine der drängenden aktuellen gesellschaftlichen Herausforderungen in Deutschland stellt die medizinische Versorgung einer alternden Bevölkerung dar. Neben sozialen und ökonomischen Fragestellungen rückt eine intensivere Betrachtung der Medizin des Alterns und des alten Menschen in den Blickpunkt (Robert Koch-Institut 2015). In der Bundesrepublik Deutschland lebten Ende 2015 82,2 Millionen Menschen. Der Anteil der in Deutschland lebenden Menschen im Alter von 65 Jahren und mehr betrug 2015 21,1% (Statistisches Bundesamt 2017). Der Altersdurchschnitt der Bevölkerung lag 2015 bei 45 Jahren und 9 Monaten. Damit war die Bevölkerung in Deutschland 2015 mit der Bevölkerung Italiens die älteste in Europa und nach der Bevölkerung Japans die zweitälteste weltweit. In den Industriestaaten wird die Bevölkerung zunehmend älter (United Nations 2017). Der sogenannte demographische Wandel wird durch zwei wichtige Faktoren bedingt.

In den Industriestaaten werden weniger Kinder geboren. Zuletzt zeigte sich die Geburtenzahl in Deutschland zwar zunehmend, dennoch betrug 2016 die durchschnittliche Kinderzahl je Frau lediglich 1,59 Kinder (Statistisches Bundesamt 2018a). Zur Aufrechterhaltung der aktuellen Bevölkerungszahl wäre eine durchschnittliche Kinderzahl von 2,1 Kinder pro Frau notwendig (Statistisches Bundesamt 2015). Positiv wirkt sich die Wanderungsbilanz aus Zu- und Fortzügen aus, wobei die Bevölkerung durch Menschen aus dem Ausland zuletzt gewachsen ist. Die Einwanderer tragen aufgrund des jungen Durchschnittsalters zwar zu einer

Verjüngung bei, allerdings reicht die Zuwanderung nicht aus, um den demographischen Wandel aufzuhalten (Statistisches Bundesamt 2017).

Ein zweiter wichtiger Grund für das Steigen des Durchschnittsalters ist der Anstieg der Lebenserwartung. 2014 bis 2016 betrug diese bei Geburt bei Jungen 78 Jahre und 4 Monate und bei Mädchen 83 Jahre und 2 Monate (Statistisches Bundesamt 2018b). Der Anstieg der Lebenserwartung ist neben anderen Faktoren eng verbunden mit der Qualität der medizinischen Versorgung (Marshall 1983; Deutsches Ärzteblatt 2017).

1.1.2 Röntgenologische Verfahren bei alternder Bevölkerung

Die Leistungsfähigkeit der modernen Medizin führt zu einem Anstieg der Lebenserwartung der Bevölkerung. Des Weiteren werden ältere Menschen häufiger krank als jüngere und nehmen somit auch häufiger medizinische Versorgung in Anspruch (Statistisches Bundesamt 2016). Daher sehen sich die handelnden Personen im Gesundheitssystem mit älter werdenden Patienten konfrontiert. Im Rahmen der medizinischen Versorgung werden vermehrt medizinische röntgenologische Verfahren angewendet (Bundesamt für Strahlenschutz 2016; United Nations 2018). Der Einsatz röntgenologischer Verfahren hat der Medizin einen enormen Fortschritt gebracht, ist andererseits aber mit dem Nachteil verbunden, dass die verwendete ionisierende Strahlung einen schädigenden Einfluss auf menschliches Gewebe haben kann (Bundesamt für Strahlenschutz 2015). Es ist daher von grundlegender Bedeutung für die Entscheidung ob und wie Röntgenverfahren angewendet werden sollen, die Einflüsse der Strahlung im menschlichen Organismus, insbesondere im Organismus des älteren Menschen, zu erforschen.

1.2 Natürliche und zivilisatorische Strahlenexposition

1.2.1 Natürliche Strahlenexposition

Der Mensch und alle anderen Lebewesen sind ionisierender Strahlung verschiedener Quellen ausgesetzt. Die aus dem Kosmos auf die Erde eintreffende ionisierende Strahlung in der Bundesrepublik Deutschland wirkt jährlich mit durchschnittlich ca. 0,3 Millisievert (mSv) auf jeden Menschen ein (Bundesamt für Strahlenschutz 2016). Dabei ist die einwirkende kosmische Strahlung abhängig von der Höhe und der Region in der sich ein Mensch befindet. Beispielsweise verursacht ein Transatlantikflug von Frankfurt nach New York und zurück eine zusätzliche Strahlenexposition von ca. 0,1 mSv. (Frasch et al. 2011). Des Weiteren wirkt ionisierende Strahlung aus dem Inneren der Erde auf den Menschen ein, welche in Deutschland je nach Region und Beschaffenheit des Untergrundgesteins unterschiedlich ausfällt und durchschnittlich ca. 0,4 mSv beträgt. Dazu kommen ca. 1,4 mSv durch Aufnahme von Substanzen aus der Umwelt in den Körper, welche ionisierende Strahlung aussenden. Insgesamt beträgt die jährliche natürliche Strahlenexposition, auch als effektive Dosis bezeichnet, in Deutschland durchschnittlich ca. 2,1 mSv für jeden Menschen. Dies entspricht in etwa dem weltweiten Durchschnittswert (Bundesamt für Strahlenschutz 2016).

1.2.2 Zivilisatorische Strahlenexposition

Die Katastrophe mit größtem anzunehmendem Unfall im Kernreaktor von Fukushima-Daiichi in Japan im Jahre 2011 hat weltweit eine erneute Diskussion über den Umgang mit ionisierender Strahlung angestoßen und in der Folge zum Beschluss des Atomausstiegs mit festgelegtem Laufzeitende der Kernreaktoren in Deutschland geführt. Die möglichen schädlichen Folgen der Anwendung

ionisierender Strahlung sind dabei stärker in den Blickpunkt gerückt. Abgesehen von den natürlichen Strahlenquellen ist jeder Mensch mit zivilisatorischer, also vom Menschen gemachter, Strahlung konfrontiert. Zivilisatorische Strahlung entsteht bei der Nutzung von Kernenergie und der industriellen und wissenschaftlichen Verwendung radioaktiven Materials, sowie durch die Testung und Anwendung von Kernwaffen. Den größten Anteil an der zivilisatorisch entstehenden Strahlung hat jedoch die Medizin. Von der mittleren effektiven Dosis von durchschnittlich ca. 3,8 mSv, die im Jahre 2015 insgesamt auf einen Menschen in Deutschland einwirkte, entstanden ca. 1,7 mSv (ca. 44 %) durch zivilisatorische Strahlung und davon nahezu die gesamten 1,7 mSv durch die medizinische Nutzung (Bundesamt für Strahlenschutz 2016).

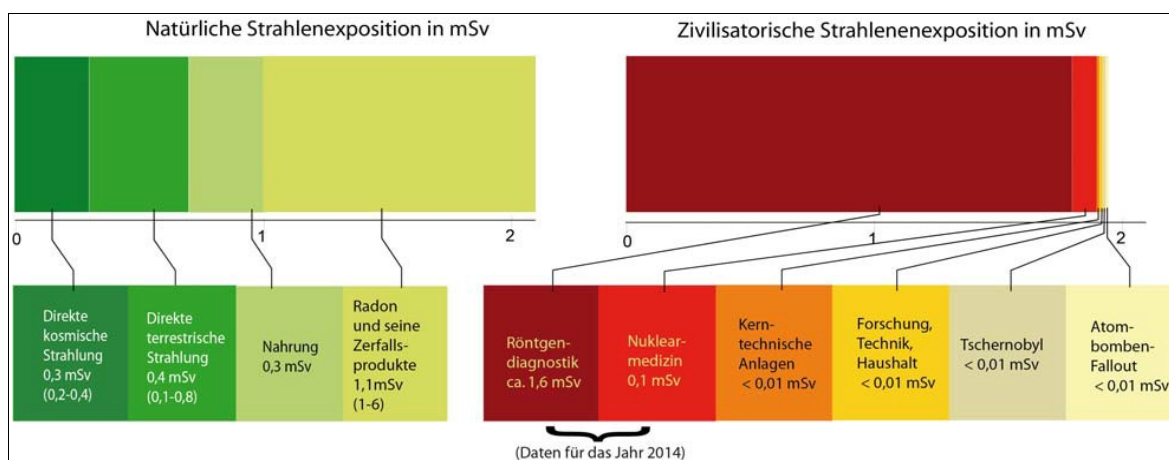


Abbildung 1: Effektive Jahresdosis einer Person durch ionisierende Strahlung in mSv im Jahr 2015.

Gezeigt ist die effektive Jahresdosis einer Person durch ionisierende Strahlung in mSv im Jahr 2015 gemittelt über die Bevölkerung Deutschlands, aufgeteilt nach dem Ursprung der ionisierenden Strahlung (Wertebereich in Klammern) (Bundesamt für Strahlenschutz 2015).

1.2.3 Medizinische Anwendung ionisierender Strahlung

Neben der Strahlentherapie und der Nuklearmedizin mit ihren diagnostischen und therapeutischen Verfahren entfällt der weitaus überwiegende Teil der durch medizinische Nutzung verursachten ionisierenden Strahlung auf die radiologische Diagnostik. Im Jahr 2014 wurden in Deutschland ca. 135 Millionen diagnostische Röntgenuntersuchungen aus medizinischer Indikation durchgeführt. Dies entsprach 2014 durchschnittlich ca. 1,7 Röntgenuntersuchungen an jedem Menschen. Die im Vergleich zu anderen Röntgenuntersuchungen strahlungsintensive Computertomographie (CT) hatte im Jahr 2014 mit 65 % den größten Anteil an der effektiven Dosis, trotz eines Anteils von lediglich 9 % an der Gesamtzahl der radiologischen Untersuchungen (Bundesamt für Strahlenschutz 2016).

Die effektive Dosis einer CT-Untersuchung ist von der untersuchten Körperregion abhängig. Die mittlere effektive Dosis einer CT-Untersuchung betrug 2013/2014 in Deutschland 5,9 mSv (Schegerer et al. 2017). Dies entspricht der durchschnittlichen effektiven Dosis von ca. 200 konventionellen Röntgenaufnahmen des Brustkorbs (Thorax) (Bundesamt für Strahlenschutz 2015). Eine zusätzliche CT-Untersuchung verursacht durchschnittlich ca. die 1,6-fache gesamte jährliche effektive Dosis eines Menschen in Deutschland. In der Betrachtung der Daten seit 2007 ist ein ansteigender Trend der Strahlenexposition durch medizinische Anwendungen zu beobachten (Bundesamt für Strahlenschutz 2016). Dabei wird zwar die Strahlenexposition durch eine geringere Anwendung konventioneller Röntgenuntersuchungen und durch einen Rückgang der Strahlenintensität einer einzelnen CT-Untersuchung vermindert (Schegerer et al. 2017), durch die Zunahme der Anzahl der CT-Untersuchungen ist die Strahlenexposition jedoch insgesamt ansteigend. Damit stellt die auf den Menschen einwirkende ionisierende Strahlung durch CT-Untersuchungen den

größten und den am stärksten ansteigenden Faktor an zivilisatorischer Strahlung dar (Bundesamt für Strahlenschutz 2016).

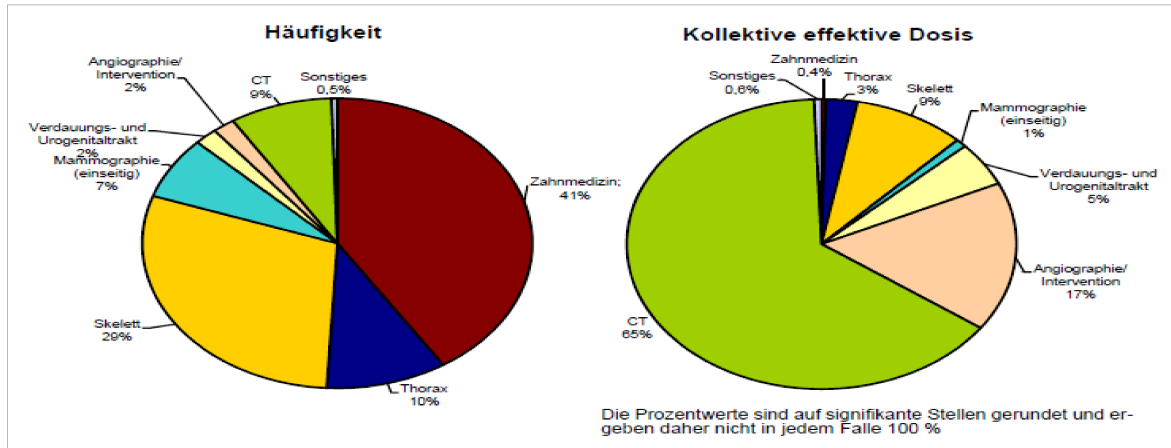


Abbildung 2: Prozentualer Anteil der verschiedenen Röntgenaufnahmen an der Gesamthäufigkeit und an der kollektiven Dosis in Deutschland für das Jahr 2014.

Gezeigt ist der prozentuale Anteil der verschiedenen Röntgenaufnahmen an der Gesamthäufigkeit, sowie der prozentuale Anteil der verschiedenen Röntgenaufnahmen an der kollektiven Dosis ionisierender Strahlung, gemittelt über die Bevölkerung Deutschlands für das Jahr 2014 (Bundesamt für Strahlenschutz 2015).

1.3 Medizinische Nutzung von Röntgenstrahlung

1.3.1 Entdeckung der Röntgenstrahlung

Die Entdeckung und Beschreibung der Röntgenstrahlung durch den deutschen Physiker Wilhelm Conrad Röntgen aus Remscheid-Lennep 1895, der dafür 1901 den ersten Nobelpreis für Physik erhielt, war der Beginn der zivilisatorischen Nutzung ionisierender Strahlung (Nobel Media 2014a). Industrie, Wissenschaft und

insbesondere Medizin sind heute ohne die Verwendung von Röntgenstrahlung nicht denkbar.

1.3.2 Aufbau einer Röntgenanlage

Bei einer Röntgenanlage handelt es sich um eine Elektronenröhre, in der Röntgenstrahlung erzeugt wird. Sie besteht aus einer Kathode und einer Anode. Zwischen diesen beiden liegt ein Vakuum. Die Kathode wird auf ca. 2000 C° erhitzt, wodurch Elektronen austreten. An der Anode wird eine positive Hochspannung von ca. 100.000 Volt (V) erzeugt. Dadurch werden die aus der Kathode ausgetretenen Elektronen in Richtung Anode beschleunigt. Beim Auftreffen der Elektronen auf die Anode wird zum weitaus überwiegenden Teil Wärme erzeugt. Nur ca. 1 % der eingesetzten Energie wird in Röntgenstrahlung umgewandelt. Die auf das Metall der Anode auftreffenden beschleunigten Elektronen erzeugen beim Herausschlagen von Elektronen aus der Anode zu einem kleinen Teil charakteristische Röntgenstrahlung. Beim überwiegenden Teil der erzeugten Strahlung handelt es sich durch Abbremsung der Elektronen in der Anode um Röntgenbremsstrahlung. Diese wird zur Erzeugung des Röntgenbildes genutzt (Freyschmidt 2001; Kaufmann, Sauer, Weber 2011; Reiser, Kuhn, Debus 2011).

1.3.3 Entstehung eines Röntgenbildes

Röntgenstrahlung wird in der Medizin für verschiedene Fragestellungen angewendet. Es können die Struktur von menschlichem Gewebe und mit neueren Techniken Prozesse im menschlichen Gewebe beurteilt werden. Beim konventionellen Röntgenbild wird der Patient mit der zu untersuchenden

Körperregion zwischen einer Röntgenanlage und einer Filmkassette positioniert. Je nach Beschaffenheit der zu untersuchenden Körperregion wird ein Teil der erzeugten Röntgenstrahlung im Körper absorbiert. Der nicht absorbierte Teil der Strahlung trifft auf eine Filmkassette bzw. bei modernen Röntgenanlagen auf eine Detektoreinheit hinter dem Patienten. Hierdurch wird der Röntgenfilm entsprechend der im Patienten absorbierten Strahlung stärker oder schwächer belichtet bzw. geschwärzt. Mittels des Bildes können nun Rückschlüsse über die Beschaffenheit der untersuchten Körperregion gemacht werden (Freyschmidt 2001; Kaufmann et al. 2011; Reiser et al. 2011).

1.3.4 Computertomographie

Neben der Entdeckung der Röntgenstrahlung wurde die theoretische Grundlage für die spätere Entwicklung der Computertomographie durch den Mathematiker Johann Radon aus Österreich 1917 erarbeitet. Mit der Radon-Transformation ist es möglich, räumliche Röntgenaufnahmen mathematisch zu erfassen (Beyerer, Puente 2002; Österreichische Akademie der Wissenschaften 2013). Unabhängig davon führten die Erkenntnisse des Physikers Allen McLeod Cormack aus Südafrika um 1957 zu den Grundlagen für die konkrete Herstellung eines Computertomographen. Die Arbeiten trugen bedeutend zur Auswertung der durch röntgenologische Untersuchungen anfallenden dreidimensionalen Daten bei. Die Weiterentwicklung der Computertechnologie war eine weitere Voraussetzung für die spätere Entwicklung der Computertomographie. Schließlich konstruierte der Elektrotechniker Godfrey Hounsfield aus England in den sechziger Jahren, unter Zuhilfenahme der zuvor entwickelten mathematischen und physikalischen Grundlagen, den ersten Computertomographen. Hounsfield und Cormack wurden dafür 1979 mit dem Nobelpreis für Medizin ausgezeichnet (Nobel Media 2014b). Der erste klinisch genutzte Computertomograph wurde 1971 im Atkinson Morley's Hospital in London in England installiert (Beckmann 2014).

Bei der Computertomographie handelt es sich um ein Schnittbildverfahren unter der Verwendung von Röntgenstrahlung. Im Gegensatz zu einer konventionellen Röntgenröhre, wo die Röntgenstrahlung von der Röntgenröhre aus in nur einer Richtung auf den Patienten trifft und dahinter über die Detektoreinheit das Bild entsteht, rotieren bei einem Computertomographen die Röntgenröhre und die Detektoreinheit um den Patienten. Der Patient wird auf einer Liege durch den Computertomographen geschoben. Es entsteht, anders als beim konventionellen zweidimensionalen Röntgenbild, ein aus Pixeln bestehendes eindimensionales Absorptionsprofil der Röntgenstrahlung. Durch computergestützte Bildrekonstruktion mittels des mathematischen Verfahrens der gefilterten Rückprojektion auf Basis der Radon-Transformation können einzelne Teile der untersuchten Struktur in Volumenelemente, bestehend aus Schichten von Pixeln, den Voxeln, umgerechnet werden. Hieraus wird dann ein dreidimensionales Bild errechnet und in Graustufen dargestellt. Die Computertomographie ist dem konventionellen Röntgen in seiner Aussagekraft überlegen. Beim konventionellen Röntgen kann als Ursache für die entstandene Schwärzung des Röntgenfilms nicht zwischen überlagerten Strukturen oder dichteren Strukturen unterschieden werden. Bei der Computertomographie kann für verschiedene Punkte in einem Objekt die Dichte einer Struktur als Röntgenschwächungswert in sogenannten Hounsfield-Einheiten (HE) angegeben werden. Hier wird die Dichte in Relation zu Wasser angegeben.

Technische Weiterentwicklungen führten zu Verkürzung der Untersuchungsdauer sowie Erhöhung der Bildqualität und Auflösung. Ein zunächst angewendeter einzelner Röntgenstrahl aus der Röntgenröhre wurde durch einen Fächerstrahl ersetzt. Statt einzelner der Röntgenröhre gegenüberliegender Detektorzellen wurden zirkuläre Detektorzellen verwendet. Die langwierige Rotation um den Patienten in Winkelstufen von einem Grad wurde obsolet (Freyschmidt 2001; Kauffmann et al. 2011; Reiser et al. 2011). Mittels der sogenannten Schleifringtechnik konnte auf Kabel zwischen Röntgenröhre sowie Detektorzellen

und dem Gehäuse des Computertomographen verzichtet werden (Freyschmidt 2001; Reiser et al. 2011). Weitere Verbesserungen brachten die Verwendung von Röntgenkontrastmittel, wodurch unterschiedliche Strukturen besser voneinander abgegrenzt werden können, die Spiral-Computertomographie, bei der das Vorschieben des Patienten durch den Computertomographen mit Drehung der Röntgenröhre und der Detektoren mit Abtastung in einzelnen Schichten, durch eine spiralförmige Drehung der Röntgenröhre und der Detektoren um den Patienten ersetzt wurde und die Mehrzeilen-Computertomographie, bei der mehrere zirkuläre Schichten von Detektoren verwendet werden (Freyschmidt 2001; Kauffmann et al. 2011; Reiser et al. 2011). Bei der Dual-Source-Computertomographie sind zwei um Neunzig-Grad versetzt um den Patienten rotierende Röntgenröhren vorhanden (Reiser et al. 2011).

1.4. Ionisierende Strahlung

1.4.1 Arten ionisierender Strahlung

Ionisierende Strahlung ist energiereiche Strahlung mit der Fähigkeit zur Ionisation. Hierbei werden Elektronen aus anderen Atomen oder Molekülen entfernt und damit ihre Ladung verändert. Es gibt verschiedene Arten ionisierender Strahlung. Ionisierende Strahlung wird in Teilchenstrahlung und elektromagnetische Strahlung unterteilt. Als Teilchenstrahlung werden Alphastrahlung und Betastrahlung bezeichnet, da Heliumkerne bzw. Elektronen ausgesandt werden. Zur elektromagnetischen Strahlung werden Gammastrahlung und Röntgenstrahlung gerechnet, da es sich bei beiden um elektromagnetische Wellen handelt. Elektromagnetische Strahlung transportiert Energie in Form von Photonen, und sie kommt mit unterschiedlichen Wellenlängen vor. Kürzere Wellenlängen haben dabei größere Energien. Neben Gammastrahlung und Röntgenstrahlung kommt elektromagnetische Strahlung mit längeren Wellenlängen unter anderem als

sichtbares Licht und in Form von Radiowellen vor. Strahlung mit diesen Wellenlängen führt aufgrund der zu geringen transportierten Energie nicht zur Ionisation (Kauffmann et al. 2011; Reiser et al. 2011).

1.4.2 Alphastrahlung

Bei der Alphastrahlung wird ein Teil eines zerfallenden und somit radioaktiven Atomkerns als kleiner Helium-4-Atomkern ausgesandt. Es handelt sich um Teilchenstrahlung. Alphateilchen haben eine hohe Ionisationsdichte. Das bedeutet es entstehen viele Ionisationen bei der Wechselwirkung mit Materie pro zurückgelegter Wegstrecke der Strahlung. Sie hat deshalb jedoch nur eine kurze Reichweite von ca. 10 cm in der Luft und eine geringe Eindringtiefe in organisches Material. Deshalb reicht beispielsweise ein Blatt Papier zur Abschirmung aus (Kauffmann et al. 2011; Reiser et al. 2011).

1.4.3 Betastrahlung

Betastrahlung besteht meist aus Elektronen. Sie entstehen als Teil des Kernzerfalls von instabilen Atomkernen bei der Umwandlung von Neutronen des Kerns zu Protonen. Es handelt sich ebenfalls um Teilchenstrahlung. Die Reichweite der Betastrahlung reicht bis zu einigen Metern und kann beispielsweise durch eine 1 cm dicke Plexiglasscheibe abgeschirmt werden (Kauffmann et al. 2011; Reiser et al. 2011).

1.4.4 Gammastrahlung und Röntgenstrahlung

Gammastrahlung entsteht nach dem vorhergehenden Zerfall eines Atomkerns und der ausgesandten Alpha- und Betastrahlung. Der verbleibende Tochterkern befindet sich in einem angeregten Zustand und gibt Energie in Form von Photonen ab, um einen energetisch stabileren Zustand zu erreichen. Es handelt sich um elektromagnetische Strahlung. Gammastrahlung hat eine deutlich größere Reichweite als Alpha- und Betastrahlung und kann nur durch Materialien mit hoher Ordnungszahl und damit hohem Absorptionsvermögen, wie beispielsweise Blei, effektiv abgeschirmt werden. Gammastrahlung hat eine Wellenlänge von unter 10^{-11} m. Die kurzwellige Strahlung ist sehr energiereich und liegt im Bereich über 200 Kiloelektronenvolt (keV). Diese Strahlungsart wird in der Medizin zur Strahlentherapie, zum Beispiel in der Behandlung solider Tumoren, eingesetzt. Röntgenstrahlung, wie sie zur Röntgendiagnostik eingesetzt wird, beginnt bei einer etwas längeren Wellenlänge von 10^{-8} m und geht bis 10^{-12} m. Die Photonenenergie ist 100 Elektronenvolt (eV) bis zu Megaelektronenvolt (MeV). Bei diagnostischen Röntgenuntersuchungen wird ionisierende Strahlung im Niedrigdosisbereich verwendet. Der Bereich der Wellenlängen und damit der Energien von Röntgenstrahlung und Gammastrahlung ist überlappend. Der Unterschied ist der Ort der Entstehung. Gammastrahlung entsteht im Inneren des Atomkerns nach dem Zerfall zu einem Tochterkern. Röntgenstrahlung entsteht dagegen durch Elektronenprozesse außerhalb des Atomkerns, wie zum Beispiel in einer Röntgenröhre. Bei der Röntgenstrahlung wird weiter zwischen zwei Arten unterschieden, der charakteristischen Röntgenstrahlung und der Röntgenbremsstrahlung (Kauffmann et al. 2011; Reiser et al. 2011).

1.4.5 Charakteristische Röntgenstrahlung

Charakteristische Strahlung entsteht, wenn ionisierende Strahlung z.B. in Form eines beschleunigten Elektrons auf ein Atom trifft und dort ein Elektron aus einer inneren Hüllschale des Atoms herausstößt. Die Lücke in der inneren Hüllschale wird durch ein Elektron aus einer energiereicheren äußeren Hüllschale aufgefüllt. Die überschüssige Energie des zuvor energiereicheren Elektrons aus der äußeren Hüllschale wird als charakteristische Röntgenstrahlung in Form von elektromagnetischer Strahlung abgestrahlt. Charakteristisch bedeutet in dem Zusammenhang, dass je nach Atom und der jeweiligen Reaktion mit dem beschleunigten Elektron eine Strahlung entsteht, die immer die gleiche ist. Deshalb kann man anhand der Strahlung Rückschlüsse auf das Atom ziehen, von dem sie ausgeht. Ein geringer Anteil der in einer Röntgenröhre erzeugten Strahlung ist charakteristische Röntgenstrahlung (Freyschmidt 2001; Kauffmann et al. 2011; Reiser et al. 2011).

1.4.6 Röntgenbremsstrahlung

Röntgenbremsstrahlung entsteht wenn Teilchenstrahlung in Form von beschleunigten Elektronen auf Materie trifft. Die Elektronen werden abgebremst. Die verbleibende Energie wird als Röntgenbremsstrahlung in Form von elektromagnetischer Strahlung freigesetzt. Ein Großteil der in einer Röntgenröhre erzeugten Strahlung ist Röntgenbremsstrahlung. Die entstandene Röntgenbremsstrahlung wird beim Röntgen genutzt, um über eine unterschiedliche Absorption der Röntgenstrahlung in unterschiedlichen Geweben Informationen über das Gewebe zu erhalten (Freyschmidt 2001; Kauffmann et al. 2011; Reiser et al. 2011).

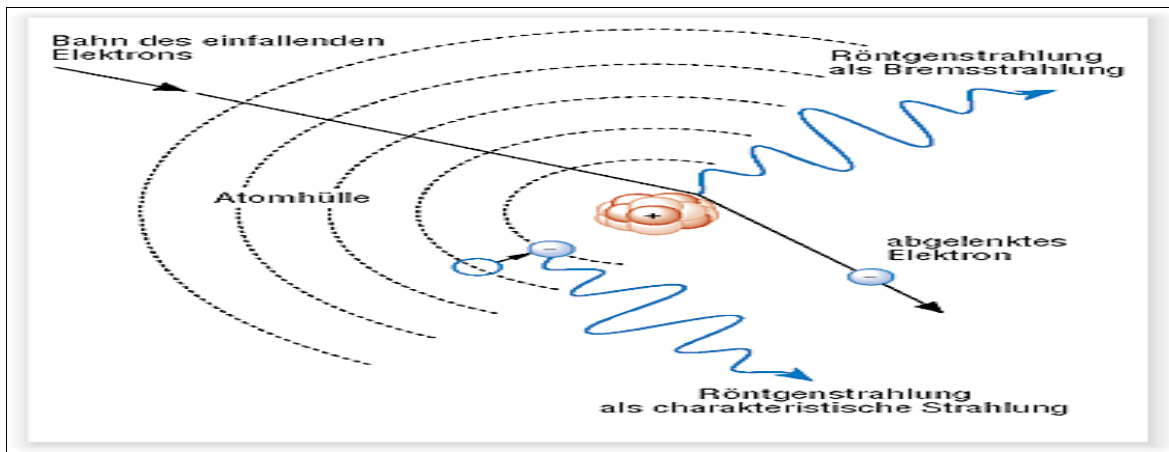


Abbildung 3: Entstehung von Röntgenstrahlung.

Gezeigt ist ein Atom mit Atomhülle und Atomkern und ein von außen einfallendes Elektron. Beim Auftreffen eines einfallendes Elektron auf ein Elektron der Atomhülle wird das Hüllelektron herausgeschlagen. Die frei gewordene Elektronenschale wird durch ein Elektron aus einer energiereicheren äußeren Schale besetzt. Durch die überschüssige Energie des energiereicheren Elektrons entsteht Röntgenstrahlung als charakteristische Strahlung. Trifft ein einfallendes Elektron auf das Atom im Bereich des Atomkerns, wird das einfallende Elektron abgebremst und abgelenkt, und es entsteht Röntgenstrahlung als Bremsstrahlung.

(Kauffmann 2011a).

1.5 Wirkungen von Röntgenstrahlung auf Materie

1.5.1 Photoelektrischer Effekt

Der photoelektrische Effekt beschreibt das durch Röntgenstrahlung in Form von Photonen verursachte Herauslösen eines Elektrons aus einer inneren Elektronenschale eines Atoms. Hierbei wird die gesamte Energie des Photons auf das Elektron übertragen. Der frei gewordene Platz der inneren Elektronenschale wird durch ein Elektron einer äußeren Elektronenschale aufgefüllt. Die überschüssige Energie wird in Form von charakteristischer Röntgenstrahlung

freigesetzt. Der photoelektrische Effekt tritt auf, wenn die Energie der auftreffenden elektromagnetischen Strahlung und die Energie der Elektronenbindung im Atom annähernd gleich sind. Bei Wechselwirkungen mit Materie durch Röntgenstrahlung im Niedrigdosisbereich, wie sie bei der Computertomographie angewendet wird, dominiert der Photoeffekt (Freyschmidt 2001; Kauffmann et al. 2011; Reiser et al. 2011).

1.5.2 Compton-Effekt

Zum Compton-Effekt kommt es beim Auftreffen eines sehr energiereichen, also kurzwelligen, Photons auf ein Elektron einer inneren Elektronenschale eines Atoms. Das Elektron wird wie beim photoelektrischen Effekt aus der inneren Elektronenschale herausgelöst. Ebenfalls wird der frei gewordene Platz der inneren Elektronenschale durch ein Elektron einer äußeren Elektronenschale ersetzt, und es wird charakteristische Röntgenstrahlung erzeugt. Jedoch wird nur ein Teil der hohen Energie des einfallenden Photons auf das Elektron des Atoms übertragen. Mit der verbleibenden Energie bewegt sich das Photon mit verminderter Energie, also vergrößerter Wellenlänge, und einer nach dem Auftreffen auf das Elektron um einem bestimmten Winkel veränderten Richtung fort. Es entsteht also ein freies Elektron, die aus der Besetzung der frei gewordenen Elektronenschale resultierende charakteristische Röntgenstrahlung und ein Photon mit verminderter Energie (Freyschmidt 2001; Kauffmann et al. 2011; Reiser et al. 2011). Für die Beschreibung des Compton-Effekts wurde dem Physiker Arthur Holly Compton aus den Vereinigten Staaten von Amerika 1927 der Nobelpreis für Physik verliehen (Nobel Media 2014b).

1.5.3 Paarbildung

Die Paarbildung entsteht durch das Auftreffen eines sehr energiereichen Photons auf das elektrische Feld eines Atomkerns. Es kommt zur spontanen Erzeugung eines Elektron-Positron-Paares. Die Energie des auftreffenden Photons, welche die Ruheenergien der neu entstandenen Teilchen übersteigt, wird in Form von kinetischer Energie auf die Teilchen übertragen (Kauffmann et al. 2011; Reiser et al. 2011).

1.5.4 Strahlendosis

Die Interaktion ionisierender Strahlung mit organischem Gewebe kann mittels bestimmter Größen beschrieben werden. Die Energiedosis in Gray (Gy) gibt die in Form von Teilchen oder elektromagnetischen Wellen während der Bestrahlung insgesamt übertragene Energie auf die Masse des bestrahlten Gewebes an (Freyschmidt 2001; Kauffmann et al. 2011; Reiser et al. 2011). Die Ionendosis in Coulomb pro Kilogramm (C/kg) gibt die während der Bestrahlung insgesamt durch Ionisation erzeugte Ladung im bestrahlten Gewebe an (Kauffmann et al. 2011; Reiser et al. 2011). Die Äquivalentdosis in Sievert (Sv) beschreibt die Energiedosis, das heißt die übertragene Energie, unter Berücksichtigung der unterschiedlich ausgeprägten Wirksamkeit der verschiedenen Arten ionisierender Strahlung auf organische Gewebe mittels eines Wichtungsfaktors. Teilchenstrahlung ist wirksamer als Photonenstrahlung. Die Organdosis in Sievert (Sv) beschreibt die Äquivalentdosis, das ist die übertragene Energie unter Berücksichtigung des Wichtungsfaktors der verschiedenen Arten ionisierender Strahlung in einem bestimmten bestrahlten Organ. Die effektive Dosis in Sievert (Sv) berücksichtigt neben der Äquivalentdosis, die sich durch die unterschiedliche Wirksamkeit der verschiedenen Arten ionisierender Strahlung definiert, die unterschiedliche Empfindlichkeit verschiedener Gewebe. Hier sind für bestimmte

Gewebe bestimmte Wichtungsfaktoren definiert. (Freyschmidt 2001; Kauffmann et al. 2011; Reiser et al. 2011). In der Computertomographie wird die Strahlendosis mittels des Dosis-Längen-Produktes (DLP) in Milli-Gray mal Zentimeter (mGy x cm) angegeben. Der Computed Tomography Dose Index (CTDI) in Milli-Gray (mGy) beschreibt die Strahlendosis in einer angenommenen einzelnen Schicht. Das Dosis-Längen-Produkt errechnet sich aus dem Computed Tomography Dose Index, multipliziert mit der Länge des Untersuchungsvolumens (Freyschmidt 2001; Kauffmann et al. 2011).

1.6 Entstehung und Reparatur von Strahlenschäden

1.6.1 Einteilung von Strahlenschäden

Durch ionisierende Strahlung kann menschliches Gewebe geschädigt werden. Es wird zwischen somatischen, teratogenen und genetischen Strahlenschäden unterschieden. Die somatischen Strahlenschäden sind unterteilt in somatische Frühschäden und somatische Spätschäden. Bei den somatischen Frühschäden handelt es sich um Schädigungen, die nach Minuten oder spätestens nach einigen Wochen auftreten. Im Rahmen der sogenannten Strahlenkrankheit kommt es unter anderem zu Schädigungen der Haut und Schleimhäute, der Blutzellen und der Nervenzellen. Nachweisbar werden diese Veränderungen erst ab einer Schwellendosis von ca. 200 bis 300 mSv, wobei die Schwere der Veränderungen mit der Strahlendosis zunehmend ist. Die genannten Veränderungen sind als deterministische Strahlenschäden definiert, da eine Schwellendosis für das Auftreten einer Veränderung überschritten werden muss. Eine solche Dosis wird bei diagnostischen radiologischen Verfahren wie der Computertomographie nicht erreicht. Somatische Spätschäden werden erst Jahre oder Jahrzehnte nach einer Strahlenexposition manifest. Hier wird zwischen malignen Spätschäden mit der Entstehung von Krebs und nicht malignen Spätschäden wie beispielsweise der

Trübung der Augenlinse unterschieden. Teratogene Strahlenschäden bezeichnen durch ionisierende Strahlung hervorgerufene Schädigungen der Fortpflanzungsfähigkeit oder Schädigungen der Entwicklung eines Kindes im Mutterleib. Genetische Strahlenschäden sind Schädigungen des Erbmateri als, welche sich erst in einer nachfolgenden Generation bemerkbar machen. Diese genannten Veränderungen sind als stochastische Strahlenschäden definiert, weil die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer Veränderung durch eine höhere Strahlendosis erhöht wird. Eine Schwellendosis ist hier nicht definiert, da eine Veränderung bereits bei einer geringen Strahlendosis eintreten kann (Kauffmann et al. 2011; Reiser et al. 2011).

1.6.2 Wirkungen von Röntgenstrahlung auf menschliches Gewebe

In menschlichen Zellen kann ionisierende Strahlung die Struktur von Molekülen verändern und damit die Funktionsfähigkeit von Proteinen wie Enzymen beeinflussen. Des Weiteren kann es zu Veränderungen an der genetischen Information in Form der Desoxyribonukleinsäure im Zellkern kommen. Diese Veränderungen sind von besonderer Bedeutung, da sie einen Untergang der gesamten betroffenen Zelle sowie Mutationen auslösen können. Bei einer Mutation handelt es sich um eine Veränderung der genetischen Information über eine veränderte Zusammensetzung der Nukleinbasen in der DNA. Mutation ist einer der wichtigsten Faktoren der Evolution. Mutationen können über Veränderungen der genetischen Information Eigenschaften eines Lebewesens verändern und so zu einem Evolutionsvorteil führen (Freyschmidt 2001; Kauffmann et al. 2011; Reiser et al. 2011). Bei einer Keimbahnmutation ist eine Geschlechtszelle von der Mutation betroffen, und die Veränderung der genetischen Information kann auf die nächste Generation vererbt werden. Bei einer somatischen Mutation ist nur der Organismus eines Individuums betroffen (Kauffmann et al. 2011; Reiser et al. 2011). Neben positiven Veränderungen können Mutationen jedoch auch negative Veränderungen

in Form von maligner Entartung mit der Entstehung von Krebs verursachen (Freyschmidt 2001; Kauffmann et al. 2011; Reiser et al. 2011).

1.6.3 Wirkungen von Röntgenstrahlung auf molekularer Ebene

Auf molekularer Ebene wird zwischen direkten und indirekten Strahlenwirkungen unterschieden. Eine direkte Strahlenwirkung entsteht, wenn ionisierende Strahlung auf ein Molekül, beispielsweise ein Protein, trifft und hier über eine Ionisation zu einer direkten Wirkung auf das Molekül führt. Eine indirekte Strahlenwirkung entsteht, wenn ionisierende Strahlung über eine Ionisation an einem Molekül beispielsweise zu einer Bildung von freien Sauerstoffradikalen führt und diese über oxidativen Stress eine Wirkung auf ein weiteres Molekül verursachen. Da menschliche Zellen zu ca. 80 % aus Wasser bestehen, kommt es sehr häufig zur indirekten Strahlenwirkung durch freie Sauerstoffradikale nach der Ionisation von Wassermolekülen. Es kann in der Folge dann beispielsweise eine Veränderung an einem Enzym verursacht werden (Freyschmidt 2001; Kauffmann et al. 2011; Reiser et al. 2011). Etwa ein Drittel der Strahlenwirkung in menschlichem Gewebe wird durch direkte Strahlenwirkung und etwa zwei Drittel durch indirekte Strahlenwirkung verursacht (Kauffmann et al. 2011).

1.6.4 Wirkungen von Röntgenstrahlung auf die DNA

An der DNA kann ionisierende Strahlung Veränderungen an den unterschiedlichen Bausteinen hervorrufen. Im Bereich der Nukleinbasen kann es bei der Basenmodifikation zu chemischen Veränderungen an den Nukleinbasen und beim Basenverlust zum Verlust von Nukleinbasen kommen. Ebenso können chemische Veränderungen am Zuckergerüst Desoxyribose entstehen. An der Struktur des DNA-Moleküls in Form eines Doppelstrangs kann es zu DNA-Vernetzungen,

sogenannten Crosslinks mit anderen DNA-Molekülen oder anderen Proteinen sowie zu DNA-Einzelstrangbrüchen und zu DNA-Doppelstrangbrüchen kommen. Eine Kombination mehrerer dieser Ereignisse wird als Bulky Lesion bezeichnet (Kauffmann et al. 2011; Reiser et al. 2011). Als die schwerwiegendste Veränderung wird ein DNA-Doppelstrangbruch angesehen, da es zur vollständigen Unterbrechung der genetischen Information kommt und in der Folge Krebs entstehen kann (Freyschmidt 2001; Kauffmann et al. 2011; Reiser et al. 2011).

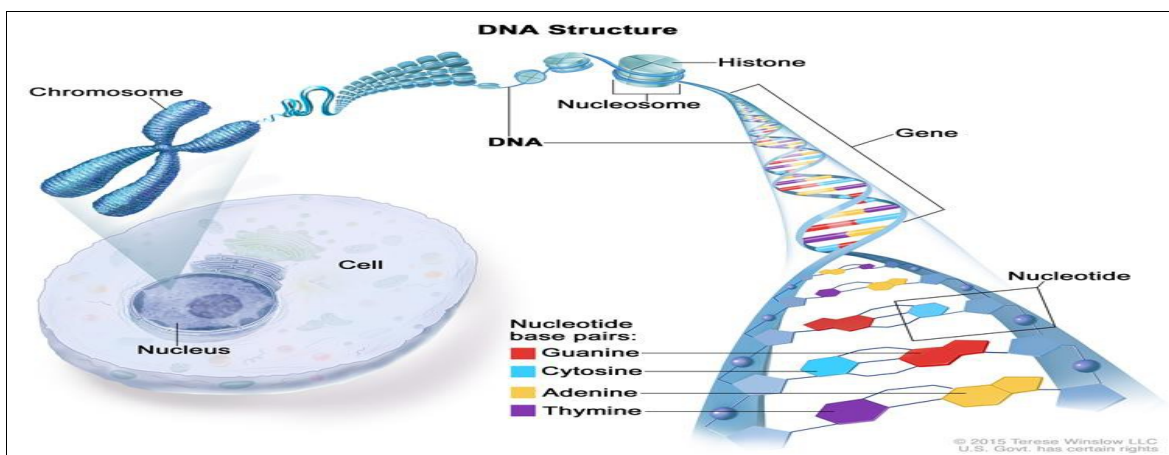


Abbildung 4: Struktur der DNA.

Gezeigt ist die Struktur der DNA mit ihren Basenpaarungen als Doppelstrang im Zellkern der Zelle. Eine der 4 Basen (Guanin, Cytosin, Adenin, Thymin) mit einem Phosphat und einem Zuckermolekül wird als Nucleotid bezeichnet. Mit umgebenden Histonen wird die DNA als Nucleosom bezeichnet. Abhängig vom Zellzyklus kondensiert die DNA zu den Chromosomen. (Winslow 2015).

1.6.5 Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen

Für die Aufrechterhaltung der Funktion des menschlichen Organismus ist es essentiell, dass Schädigungen der DNA erkannt und adäquate Reaktionen

eingeleitet werden. Eine menschliche Zelle durchläuft im Rahmen der Zellteilung einen Zellzyklus mit unterschiedlichen Aktivitätsphasen. An Zellzykluskontrollpunkten wird über spezielle Zellzykluskontrollproteine der korrekte Ablauf der unterschiedlichen Aktivitätsphasen überwacht. Im Falle von Schädigungen der DNA wird eine Reparatur oder ein programmierter Zelltod, die Apoptose eingeleitet. Es stehen unterschiedliche Reparaturmechanismen der unterschiedlichen Veränderungen zur Verfügung. Ein Doppelstrangbruch der DNA als schwerwiegendste Veränderung kann entweder durch homologe oder durch nicht-homologe-End-zu-End-Verknüpfung repariert werden (Freyschmidt 2001; Kauffmann et al. 2011; Reiser et al. 2011). Die DNA einer menschlichen Zelle liegt als kontinuierlicher Strang vor und wird als Chromatid bezeichnet. Zwei Chromatiden, die über ein Centromer verbunden sind, werden als Chromosom bezeichnet. Jedes Chromosom verfügt über zwei identische, homologe Chromatiden und somit über eine doppelte identische Erbinformation. Zudem liegt jedes Chromosom im Zellkern diploid (doppelt) vor.

Bei der homologen Reparatur wird für die Reparatur eines DNA-Doppelstrangbruchs eine homologe Region auf dem anderen Chromatid des gleichen Chromosoms oder eine homologe Region auf dem anderen Chromosom genutzt. (Freyschmidt 2001; Kauffmann et al. 2011). Die Erkennung eines DNA-Doppelstrangbruchs erfolgt über den sogenannten MRN-Komplex aus verschiedenen Proteinen, und dies führt zur Rekrutierung des Enzyms Serin-Proteinkinase Ataxia Teleangiectasia Mutated (ATM) (Syed and Tainer 2018; Stagni et al. 2018). Dieses aktiviert eine Signalkaskade zur Bereitstellung von DNA-Reparaturproteinen. Zudem wird über das Protein RAD51 und weiteren Proteine ein sogenannter Displacement loop (D-Loop) gebildet (Colvatio et al. 2010). Hier werden die beiden Stränge des intakten, zum Doppelstrangbruch homologen DNA-Doppelstrangs auf einer begrenzten Strecke voneinander getrennt und mit dem DNA-Doppelstrangbruch verbunden. Eine Replikation kann nun erfolgen (Freyschmidt 2001; Kauffmann et al. 2011; Reiser et al. 2011). Das Einfügen der

replizierten DNA-Sequenzen aus dem homologen DNA-Bereich in den Bereich des DNA-Doppelstrangbruchs erfolgt über die von dem Biologen Robin Holliday aus Großbritannien 1964 beschriebene Holliday-Struktur (Ho 2017; Kirkwood 2014). Ein replizierter Einzelstrang und ein freiliegender Einzelstrang des DNA-Doppelstrangbruchs werden aufgespalten und die freien Enden miteinander verknüpft.

Bei der nicht-homologen-End-zu-End-Verknüpfung werden die Enden des DNA-Doppelstrangbruchs erneut zusammengeführt. Ein vorheriger Abgleich mit homologen Bereichen findet nicht statt (Freyschmidt 2001; Kauffmann et al. 2011). Die Reparatur beginnt ebenfalls über den MRN-Komplex und das Enzym ATM. Mit dem Ku-Komplex aus verschiedenen Proteinen, benannt nach dem Vornamen des Patienten aus Japan, in dem er entdeckt wurde, werden die freien Enden der DNA stabilisiert und ein Abbau verhindert (Fell, Schild-Poulter 2015; Dynan, Yoo 1998). Dann erfolgt die Reparatur durch den Ligase IV-Komplex aus verschiedenen Proteinen. Die nicht-homologe Reparatur ist das häufigste Reparaturverfahren. Allerdings kommt es aufgrund des fehlenden Abgleichs der Reparatur mit homologen DNA-Bereichen zu fehlenden oder zusätzlichen Basen. Durch die Veränderung der genetischen Information kommt es zu Mutationen (Freyschmidt 2001; Kauffmann et al. 2011).

Durchschnittlich führen Fehler bei der Replikation der DNA, chemische Prozesse und ionisierende Strahlung in einer menschlichen Zelle zu täglich ca. 60.000 unterschiedlichen Schädigungen der DNA (Bernstein, Prasad, Nfonam, Bernstein 2013). Bei einer Bestrahlung mit 1 Gy entstehen in einer menschlichen Zelle ca. 1500 Basenschäden, ca. 1200 Veränderungen des Zuckergerüsts, ca. 150 Crosslinks, ca. 750 DNA-Einzelstrangbrüche und ca. 50 DNA-Doppelstrangbrüche und Bulky lesions (Kauffmann et al. 2011).

1.6.6 Nachweismethoden von DNA-Doppelstrangbrüchen

Im Zuge der zunehmenden Erkenntnisse über die Wirkungen von Röntgenstrahlung auf menschliches Gewebe und der Beschreibung von DNA-Doppelstrangbrüchen wurden unterschiedliche Nachweismethoden von DNA-Doppelstrangbrüchen entwickelt.

Bei der Pulsfeld-Gelelektrophorese wird wie bei der klassischen Elektrophorese DNA auf ein Gel aufgebracht und eine elektrische Spannung angelegt. Durch die unterschiedliche Molekülgröße der einzelnen DNA-Fragmente legen diese unterschiedliche Wegstrecken in einer bestimmten Zeit zurück. Mit Hilfe einer kurzzeitigen Umpolung des elektrischen Feldes kann eine bessere Auftrennung der Fragmente erzielt werden. Nach vorheriger Anfärbung mit Fluoreszenzfarbstoffen können die Fragmente in einem Fluoreszenzmikroskop sichtbar gemacht werden. Über die Quantität der unterschiedlich großen DNA-Fragmente können Rückschlüsse über die Quantität von DNA-Doppelstrangbrüchen gezogen werden. Mit der Methode können große DNA-Fragmente in der Größe von Chromosomen voneinander unterschieden werden (Parizad, Parizad, Valizadeh 2016).

Der Comet-Assey ist eine Weiterentwicklung der Elektrophorese, mit der DNA-Doppelstrangbrüche in einzelnen Zellen nachgewiesen werden können. Hier kommt es zur Lyse einzelner Zellen. DNA-Bruchstücke, die durch DNA-Doppelstrangbrüche entstanden sind, wandern durch Elektrophorese aus dem Zellkern heraus und können nach vorheriger Anfärbung mit Fluoreszenzfarbstoffen in einem Fluoreszenzmikroskop als kometenartiger Schweif sichtbar gemacht werden (Afanasieva, Sivolob 2018). Für den Nachweis von DNA-Doppelstrangbrüchen über Elektrophoresemethoden sind relativ viele DNA-Doppelstrangbrüche durch relativ hohe Strahlendosen notwendig.

Eine weitere Methode zum Nachweis von DNA-Doppelstrangbrüchen ist die vorzeitige Chromosomenkondensation. Mehrere DNA-Doppelstrangbrüche führen zum Auftreten eines Chromosomenbruchs. Hier führt nicht jeder DNA-Doppelstrangbruch zu einem Chromosomenbruch. Nur in der Mitose-Phase des Zellzyklus liegen die Chromosomen physiologischer Weise in kondensierter Form vor. Mittels bestimmter Chemikalien können eine vorzeitige Kondensation induziert und die Chromosomenbrüche mikroskopisch dargestellt und quantifiziert werden (Hatzi, Terzoudi, Paraskevopoulou, Makropoulos, Matthopoulos, Pantelias 2006).

Die TUNEL-Methode (TdT-mediated dUTP-biotin nick end labeling) wird in Zellen angewendet, welche einen programmierten Zelltod durchlaufen. Mittels des Enzyms TdT (Terminal desoxynucleotidyl Transferase) werden zuvor durch einen Antikörper markierte Nukleotide mit den während der Apoptose freiwerdenden Bruchenden von DNA-Doppelstrangbrüchen verbunden. Die durch den Antikörper markierten DNA-Doppelstrangbrüche können nach Anfärbung mit Fluoreszenzfarbstoffen unter einem Fluoreszenzmikroskop sichtbar gemacht werden (Loo 2011).

Der Goldstandard zur Erkennung und Quantifizierung von DNA-Doppelstrangbrüchen ist die γ -H2AX-Methode (Kuefner, Brand, Engert, Schwab, Uder 2015). Die genetische Information in Form der DNA liegt an Histonen gebunden vor. Diese Proteine sind für die räumlich dichte Verpackung der DNA im Zellkern und für weitere Regulierungen wie den Ablauf der Transkription verantwortlich. Es sind fünf unterschiedliche Histonklassen bekannt (H1, H2A, H2B, H3, H4). Eine Einheit aus DNA und acht Histonen (jeweils 2x H2A, H2B, H3, H4) wird als Nukleosom bezeichnet (Kamakaka, Biggins 2005). Bei der γ -H2AX-Methode wird eine Besonderheit des Histons H2AX genutzt. Im Falle eines DNA-Doppelstrangbruchs kommt es innerhalb von Minuten zu einer Übertragung einer Phosphatgruppe an H2AX. Dieses phosphorylierte Histon wird dann als γ -H2AX bezeichnet. Durch die gleichmäßige Verteilung von H2AX im Chromatin und eine

erneute Dephosphorylierung im Falle einer Reparatur eines DNA-Doppelstrangbruchs eignet sich das Histon 2AX zum Nachweis von DNA-Doppelstrangbrüchen und zum Nachweis von Reparaturereignissen von DNA-Doppelstrangbrüchen. Spezifische Antikörper für γ -H2AX binden in vitro innerhalb von Minuten an γ -H2AX. Ein weiterer fluoreszierender Antikörper kann dann mittels Immunfluoreszenz mikroskopisch detektiert werden. Hierbei konnte nachgewiesen werden, dass jeder detektierte fluoreszierende Focus einem DNA-Doppelstrangbruch entspricht (Kuefner et al. 2015; Löbrich, Shibata, Beucher, Fisher, Ensminger, Goodarzi, Barton, Jeggo 2010; Rothkamm, Lobrich 2003).

2 Ziel der Untersuchung

Die Bevölkerung in Deutschland und anderen Industriestaaten wird zunehmend älter. Großen Anteil an einer höheren Lebenserwartung hat der medizinische Fortschritt. Im Rahmen medizinischer strahlentherapeutischer und strahlendiagnostischer Verfahren wird vermehrt energiereiche ionisierende Strahlung, mit der Fähigkeit, die Ladung von Teilchen zu verändern, angewendet. Die Mehrzahl der radiologischen Verfahren wird bei Menschen im höheren Lebensalter eingesetzt. Die medizinische Anwendung ionisierender Strahlung verursacht die größte Dosis der jährlich auf einen Menschen in Deutschland einwirkenden ionisierenden Strahlung. Hierbei entsteht der größte Teil der ionisierenden Strahlung durch computertomographische Untersuchungen. Die schwerwiegendste negative Folge der Einwirkung ionisierender Strahlung auf menschliches Gewebe ist eine Veränderung der Erbinformation mit einem Doppelstrangbruch der DNA. Wird dieser nicht erkannt und nicht oder nicht ausreichend repariert, bzw. ein programmierter Zelltod (Apoptose) eingeleitet, kann es zu einer Mutation und im ungünstigsten Falle zu einer malignen Entartung mit der Entstehung von Krebs kommen.

Die Folgen der Einwirkung ionisierender Strahlung im Niedrigdosisbereich, wie er bei CT-Untersuchungen vorliegt, sind nicht umfassend erforscht. Das bisherige Linear No-Threshold (LNT) Modell, das eine lineare Zunahme von Strahlenschäden in Form von DNA-Doppelstranbrüchen mit der Zunahme der Strahlenintensität von ionisierender Strahlung ohne einen Schwellenwert für Strahlenschäden proklamiert, wurde durch neuere Untersuchungen in Frage gestellt. Es ergaben sich Hinweise, dass es zu vermehrten Strahlenschäden im Niedrigdosisbereich bzw. zu einer verminderten Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen kommen könnte.

Zum Nachweis von DNA-Doppelstrangbrüchen nach ionisierender Strahlung im Niedrigdosisbereich in vivo, ist die γ -H2AX-Methode der Goldstandard. Nach Einwirkung ionisierender Strahlung kommt es zu einer Phosphorylierung an der Untergruppe H2AX eines Histonproteins als Bestandteil des DNA-Moleküls. Das entstandene γ -H2AX kann mittels eines spezifischen Antikörpers gebunden und mittels eines weiteren fluoreszierenden Antikörpers unter dem Fluoreszenzmikroskop sichtbar gemacht und erfasst werden. Es wurde bereits in Studien nachgewiesen, dass die γ -H2AX-Methode in vivo auch im Niedrigdosisbereich ionisierender Strahlung im Bereich von Milligray (mGy) verwendbar ist. Zudem wurde bereits nachgewiesen, dass ein γ -H2AX-Focus einem DNA-Doppelstrangbruch entspricht und im zeitlichen Verlauf die Reduktion von γ -H2AX-Foci der Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen entspricht.

Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit wurde die Entstehung und der zeitliche Verlauf über 24 Stunden von DNA-Doppelstrangbrüchen in Form von γ -H2AX-Foci untersucht.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde der Einfluss des Patientenalters auf die Entstehung von γ -H2AX-Foci und den zeitlichen Verlauf untersucht.

Im Rahmen dieser Arbeit sollte

1. die Anzahl von DNA-Doppelstrangbrüchen vor und nach einer CT-Untersuchung erfasst werden,
2. die Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen im zeitlichen Verlauf nach einer CT-Untersuchung erfasst werden,
3. die Anzahl von DNA-Doppelstrangbrüchen vor und nach einer CT-Untersuchung in Bezug zum Patientenalter erfasst werden,
4. die Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen im zeitlichen Verlauf nach einer CT-Untersuchung in Bezug zum Patientenalter erfasst werden.

3 Material und Methoden

3.1 Material

3.1.1 Puffer und Medien

| Medium | Typ | Hersteller, Ort |
|----------------------------|--|---|
| Destilliertes Wasser | MilliQ UF-Anlage | Millipore, Erkrath, Deutschland |
| Lymphozyten- nährmedium | RPMI 1640 with L-Glutamine | PAA Laboratories GmbH, Pasching, Österreich |
| Pufferlösung | Phosphat-buffered saline (PBS) 137 Millimol (mM) NaCl 2,7 mM KCl 6,5 mM Na ₂ HPO ₄ | Roth, Karlsruhe, Deutschland |
| Serum | Fetal Bovine Serum (FBS) | PAA, Cölbe, Deutschland |

3.1.2 Häufig verwendete Chemikalien

| <u>Chemikalie</u> | <u>Typ</u> | <u>Hersteller, Ort</u> |
|--------------------------|--------------------------------|------------------------------------|
| Lymphozyten-Trennmedium | LSM-Trennmedium PAA, | Cölbe, Deutschland |
| Methanol | 100 % Methanol, technisch | ACROS Organics, New Jersey, USA |
| Mounting Medium | Fluorescent Mounting Medium | Dako, Hamburg, Deutschland |
| Triton | Triton X-100 | Roth, Karlsruhe, Deutschland |

3.1.3 Antikörper und Fluoreszenzfarbstoffe

| <u>Antikörper/Farbstoff</u> | <u>Typ</u> | <u>Hersteller, Ort</u> |
|------------------------------------|---|--|
| Primärer Antikörper | Anti-phospho-Histone 2A.X (Ser139), clone JBW301 (mouse monoclonal IgG1) | Millipore, Schwalbach/Ts., Deutschland |

| | | |
|-----------------------|---|--|
| Sekundärer Antikörper | Goat Anti-Mouse IgG conjugate PF-488 | Promokine, Promocell, Heidelberg, Deutschland |
| Zellkernfarbstoff | 4',6-Diamidino-2- phenylindole dihydrochloride (DAPI) | Sigma-Aldrich, Hamburg, Deutschland |

3.1.4 Blutentnahmematerialien

| Material | Typ | Hersteller, Ort |
|-----------------------|------------------------------|--|
| Monovetten | S-Monovette 5,5 ml AH | Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland |
| Venenpunktionsbesteck | Multifly Set 21 Gauge (G) | Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland |
| Venenverweilkanüle | Vasofix 22 G, 20 G, 18 G | B. Braun, Melsungen, Deutschland |

3.1.5 Sonstige Materialien

| Material | Typ | Hersteller, Ort |
|-------------------------------|------------------------|---|
| Deckgläser | 20 * 20 mm | Menzel-Gläser, Braunschweig, Deutschland |
| Laborröhrchen | Falcon 25 ml, 50 ml | Greiner Bio-One, Frickenhausen, Deutschland |
| Lymphozyten- Trennröhrchen | Leucosep | Greiner Bio-One Frickenhausen, Deutschland |

3.1.6 Geräte

| Gerät | Typ | Hersteller, Ort |
|-------------------|--|--|
| Computertomograph | Sensation 64 dual-source 64-detector MS-CT | Siemens Medical Solutions, Forchheim, Deutschland |

| | | |
|--|--|--|
| Fluoreszenzmikroskop mit CCD-Kamera | Axiovert 200 M inverted fluorescence microscope | Carl Zeiss, Jena, Deutschland |
| Mikroskop | Leitz DiaLux | Leitz, Wetzlar, Deutschland |
| Mikroskop | Olympus Phase Contrast ULWCD 0,30 | Olympus, Tokio, Japan |
| Pipetten | Eppendorf Research Pipetten 10 µl, 20 µl, 100 µl, 200 µl, 1.000 µl | Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland |
| Sterile Werkbank | Sicherheitswerkbank HeraSafe | Heraeus, Hanau, Deutschland |
| Sterile Werkbank | Modell ET 130V/UV | Ehret, Emmerdingen, Deutschland |
| Wasserbad | Thermomix BU | Braun, Melsungen, Deutschland |
| Wasserentionisierungs- anlage | Milli Q UF plus | Millipore, Erkrath, Deutschland |

| | | |
|------------|---------------------------------------|---|
| Wippe | Eigenbau der Universitätswerkstatt | Werkstatt der medizinischen Forschungs- einheiten, Marburg, Deutschland |
| Zentrifuge | Labofuge 400 | Heraeus, Hanau, Deutschland |
| Zentrifuge | Megafuge 1.0 | Heraeus, Hanau, Deutschland |

3.1.7 Software

| Software | Typ | Hersteller, Ort |
|------------------|------------|--|
| Imaging Software | Wasabi | Hamamatsu, Hamamatsu City, Japan |
| Software | Axiovision | Carl Zeiss, Jena, Deutschland |

3.2 Methoden

3.2.1 Versuchsgrundlage

Bei der Computertomographie verwendete ionisierende Strahlung kann Strahlenschäden in menschlichem Gewebe in Form von Doppelstrangbrüchen der DNA verursachen. DNA-Doppelstrangbrüche führen zur Phosphorylierung der mit der DNA assoziierten Histone 2AX. Diese Phosphorylierung wird in Lymphozyten mittels eines Primärantikörpers markiert. Da das venöse Vollblut mit den darin befindlichen Lymphozyten gut zugänglich ist, eignet es sich gut für den hier verwendeten Versuchsaufbau. Durch einen fluoreszierenden Sekundärantikörper, welcher an den Primärantikörper bindet, wird die Phosphorylierung und damit der Doppelstrangbruch unter dem Fluoreszenzmikroskop sichtbar gemacht und dann visuell ausgezählt. Diese Methode wird als Immunostaining bezeichnet. Über die Bestimmung der γ -H2AX-Foci zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten nach Einwirkung der ionisierenden Strahlung wird die Anzahl der Doppelstrangbrüche im zeitlichen Verlauf bestimmt. So können Rückschlüsse über das Vorhandensein von Doppelstrangbrüchen und die Entwicklung über die Zeit gemacht werden.

3.2.2 Ethikantrag

Das Studienprotokoll wurde bei der Kommission für Ethik in der ärztlichen Forschung des Fachbereichs Humanmedizin der Philipps-Universität Marburg eingereicht und am 31.05.2007 genehmigt.

3.2.3 Einschlusskriterien

In die Untersuchung eingeschlossen wurden Patienten des Klinikums der Philipps-Universität Marburg, an denen aus medizinischer Indikation eine CT-Untersuchung durchgeführt wurde.

3.2.4 Ausschlusskriterien

Nicht eingeschlossen wurden minderjährige Patienten im Alter unter 18 Jahren und solche, die an einer Leukämie bzw. einem Lymphom litten oder in der Vergangenheit gelitten haben. Des Weiteren ausgeschlossen wurden Patienten, die innerhalb der letzten 6 Monate einer strahlentherapeutischen oder chemotherapeutischen Behandlung unterzogen wurden, sowie solche, die innerhalb der letzten 3 Tage einer radiologischen oder szintigraphischen Untersuchung ausgesetzt waren.

3.2.5 Aufklärung und Einverständnis

Vor Einschluss in die Studie erfolgte bei allen Patienten 24 Stunden vor der aus medizinischer Indikation geplanten CT-Untersuchung eine informierte Einwilligung (Informed Consent). In einem ausführlichen Aufklärungsgespräch gab es ausreichend Gelegenheit Fragen zu stellen und es wurde ein Informationsblatt ausgehändigt. Es wurden nur die Patienten in die Studie eingeschlossen, die eine schriftliche Einwilligung unterschrieben hatten.

3.2.6 Einteilung in Altersgruppen

Es wurden 47 Patienten, welche die Einschlusskriterien aufwiesen und keine Ausschlusskriterien zeigten, in die Forschungsarbeit eingeschlossen und in 7 Altersgruppen eingeteilt. Die Altersgruppen und die Anzahl der Patienten pro Altersgruppe sind in Tabelle 1 zu sehen.

| Altersgruppe | Patientenalter | Patienten pro Altersgruppe |
|---------------------|-----------------------|-----------------------------------|
| 1 | 20 bis 29 Jahre | 5 Patienten |
| 2 | 30 bis 39 Jahre | 6 Patienten |
| 3 | 40 bis 49 Jahre | 4 Patienten |
| 4 | 50 bis 59 Jahre | 8 Patienten |
| 5 | 60 bis 69 Jahre | 12 Patienten |
| 6 | 70 bis 79 Jahre | 8 Patienten |
| 7 | 80 bis 89 Jahre | 4 Patienten |

Tabelle 1: Altersgruppe mit Patientenalter und Patienten pro Altersgruppe.

Gezeigt ist jeweils die Altersgruppe mit Unter- und Obergrenze des Alters und die Anzahl der Patienten pro Altersgruppe.

3.2.7 Datenerhebung

Die Erhebung der klinischen Daten in Form der Blutproben erfolgte von März 2008 bis Januar 2009 im Medizinischen Zentrum für Radiologie des Universitätsklinikums Marburg. Die Verarbeitung der Proben im Labor der Klinik für Nuklearmedizin Marburg und die Auswertung im Labor der medizinischen Forschungseinheiten Marburg erfolgte von März 2008 bis Juli 2009.

3.2.8 Computertomographie

Bei dem verwendeten Computertomographen handelt es sich um einen Sensation 64 dualsource 64-detector MS-CT von Siemens Medical Solutions, Forchheim, Deutschland. Die Röhrenspannung (kVp) beträgt 120 kV. Die Matrix ist 512 * 512 bei einer Rotationszeit von 0,5 Sekunden (s). Bei 26 der 47 Patienten wurde ein Kontrastmittel verwendet und 21 Patienten erhielten eine native Computertomographie ohne Kontrastmittel. Für alle Untersuchungsteilnehmer wurde das Dosislängenprodukt (DLP) erfasst.

3.2.9 Probengewinnung

Um die Lymphozyten der Patienten untersuchen zu können, wurde ihnen an 5 unterschiedlichen Zeitpunkten mit Hilfe einer Braun Vasofix Venenverweilkanüle oder einem Sarstedt Multifly Venenpunktionsbesteck 5,5 ml venöses Vollblut in Braun S-Monovetten Heparinröhrchen entnommen. Der Punktionsort war der Unterarm. Bevorzugt wurde eine Vene in der Ellenbeuge oder eine Vene am Handrücken verwendet. Die Zeitpunkte der Blutentnahme waren: Unmittelbar vor der CT-Untersuchung, 5 Minuten nach der Untersuchung, 1 Stunde und 2 Stunden nach der Untersuchung und 24 Stunden nach der Untersuchung. Dies ist in Tabelle 2 dargestellt.

| Zeitpunkt t | Zeit zur Untersuchung |
|--------------------|------------------------------|
| 1 | Unmittelbar davor |
| 2 | 5 min danach |
| 3 | 1 Stunde danach |
| 4 | 2 Stunden danach |
| 5 | 24 Stunden danach |

Tabelle 2: Zeitpunkt der Blutentnahme vor und nach der CT-Untersuchung.

Gezeigt ist jeweils der Zeitpunkt t der Blutentnahme, bezogen auf den Zeitpunkt der CT-Untersuchung.

3.2.10 Probentransport

Die Aufbereitung der Blutproben bis zur Fixierung auf Objektträgern und die anschließende Tiefkühlung erfolgte im Labor der Klinik für Nuklearmedizin der Philipps-Universität Marburg, Baldingerstraße in 35037 Marburg. Nach der Gewinnung der Proben wurden diese unmittelbar mit Kühlaggregaten gekühlt, um durch Verlangsamung der Stoffwechselprozesse mögliche Reparaturprozesse und damit mögliche Verfälschungen der Messergebnisse vor der Verarbeitung zu reduzieren.

3.2.11 Dichtegradientenzentrifugation

Um die Lymphozyten zu extrahieren, wurde das Verfahren der Dichtegradientenzentrifugation angewendet. Dabei werden die einzelnen Bestandteile des Blutes durch Zentrifugieren aufgetrennt. Aufgrund der unterschiedlichen Dichte der verschiedenen festen Bestandteile des Blutes, entstehen Banden mit den jeweiligen Bestandteilen. Im Rahmen dieser Studie

wurden Leucosep Lymphozyten-Trennröhrchen verwendet. Dabei handelt es sich um Röhrchen, die mit einer Membran versehen sind, welche undurchlässig für Lymphozyten ist. Andere Blutbestandteile können die Membran passieren. Nach der Zentrifugation bleibt ein Überstand über der Membran, der die Lymphozyten enthält. Die Lymphozyten-Trennröhrchen wurden zunächst mit 15 Milliliter (ml) Lymphozyten-Trennmedium befüllt und in der Zentrifuge für 30 Sekunden (s) bei $1000 \times$ Gewichtskraft der Erde (G) mit eingeschalteter Bremse zentrifugiert, um den Bereich der Röhrchen unterhalb der Membran mit Lymphozytentrennmedium zu befüllen.

3.2.12 Zentrifugations- und Waschschrirte

Nach der Blutentnahme wurden die 5,5 ml Blut mit Pufferlösung PBS im Verhältnis Blut zur Pufferlösung 1:2, in einem 50 ml Falcon Röhrchen verdünnt. Das Blut/PBS-Gemisch wurde dann in ein mit Lymphozyten-Trennmedium vorbereitetes Lymphozyten-Trennröhrchen (Leucosep Röhrchen) überführt und für 20 Minuten (min) bei $1.200 \times$ G ohne Bremse zentrifugiert. Dieser Schritt wurde ohne Bremse durchgeführt, um eine Zerstörung der Zellen durch abruptes Bremsen zu verhindern. Alle nachfolgenden Schritte konnten mit Bremse durchgeführt werden. Der entstandene Überstand oberhalb der Trennmembran aus Lymphozyten/PBS-Gemisch wurde in ein 50 ml Falcon Röhrchen überführt und mit weiteren 10 ml PBS vermengt. Es folgte ein Zentrifugationsschritt für 5 min bei $250 \times$ G. Danach wurde der entstandene Überstand verworfen und das verbleibende Pellet mit den Lymphozyten erneut mit 10 ml PBS vermengt. Der Waschvorgang wurde insgesamt vier mal vollzogen. Nach dem dritten Waschschritt wurde erneut der entstandene Überstand verworfen. Das Pellet wurde nun mit 3 ml PBS vermengt.

3.2.13 Bestimmung der Zelldichte

Um die Dichte der Lymphozyten in dem Lymphozyten/PBS-Gemisch zu bestimmen wurden von dem 3 ml Lymphozyten/PBS-Gemisch 10 µl in eine Neubauer Zellzählkammer verbracht. Nun folgte ein letzter Zentrifugationsschritt für 5 min bei 250 * G des verbliebenen Lymphozyten/PBS-Gemisches mit nachfolgendem Verwerfen des entstandenen Überstandes. Da in einer Zellzählkammer das auszuwertende Volumen bekannt ist, kann über die Anzahl an Lymphozyten in dem definierten Volumen die Konzentration bestimmt werden. Nachdem mit der Neubauer Zellzählkammer unter dem Mikroskop die Lymphozytenzahl bestimmt wurde, konnte mittels unten stehender Formel errechnet werden, wie viel PBS erneut zu dem verbliebenen Pellet zugegeben werden musste, um die zuvor festgelegte und zur späteren Auswertung der γ-H2AX-Foci günstige, Konzentration von 50.000 Zellen in 5 µl Lymphozyten/PBS-Gemisch zu erzeugen. Jetzt wurde die entsprechende Menge PBS zu dem Pellet zugegeben. Die Formel ist in Tabelle 3 dargestellt.

| |
|---|
| $x \text{ µl PBS} = (5\text{µl}/50.000 \text{ Zellen}) * \text{Gesamtzellzahl}$ |
|---|

Tabelle 3: Formel zur Berechnung der Zugabe von Pufferlösung.

Gezeigt ist die Formel zur Berechnung der notwendigen Menge der Zugabe von Pufferlösung, zur Verdünnung auf eine Konzentration von 50.000 Zellen in 5 µl, pro Mikroskopierbereich auf dem Objektträger.

3.2.14 Methanolfixierung

Um die Proben anschließend unter dem Mikroskop auswerten zu können, wurden pro Blutentnahmezeitpunkt t auf jeweils mindestens fünf Objektträger je 5 µl

Tropfen an zwei unterschiedlichen Stellen aufgetragen. Die gewünschte Zelldichte auf den Objektträgern von 50.000 Zellen in 5 µl Lymphozyten/PBS-Gemisch wurde erneut mittels einer Neubauer Zellzählkammer unter dem Mikroskop kontrolliert. Danach erfolgte eine Lufttrocknung unter einer sterilen Werkbank (Clean Bench). Zum Abschluss musste eine Fixierung erfolgen. Dazu wurden die Objektträger für 30 min bei -20 °C in Methanol verbracht. Nach erneuter Lufttrocknung wurden die Objektträger in Aluminiumfolie verpackt und bei -20 °C tiefgekühlt.

3.2.15 Immunfluoreszenz

Um die Zellwände der Lymphozyten für die verwendeten Antikörper durchgängig zu machen, wurden die Objektträger für 30 min mit 0,5 % Triton X-100 und PBS behandelt. Danach wurden sie über Nacht in 0,5 % Triton X-100 und PBS und dem Nährmedium 10 % FBS bei 4 °C belassen. Am darauf folgenden Tag wurden für eine Stunde 100 µl des 1:200 mit 0,5 % Triton X-100 und PBS verdünnten primären Antikörpers gegen γ-H2AX Histone aufgegeben. Es schlossen sich drei Waschgänge für jeweils 10 min mit 0,5 % Triton X-100, PBS und 1 % FBS in einer Küvette auf einem Rüttler an. Nun wurde der fluoreszierende sekundäre Antikörper aufgegeben. Die Konzentration war 1:200 mit 0,5 % Triton X-100 und PBS. Die Inkubation erfolgte für eine Stunde bei Dunkelheit. Anschließend erfolgten erneut drei Waschgänge für jeweils 10 min mit 0,5 % Triton X-100, PBS und 1 % FBS. Um später unter dem Mikroskop die Zellkerne vom Rest der Zellen unterscheiden zu können wurde nun 1:2000 mit PBS verdünntes DAPI zur Zellkernfärbung aufgegeben. Danach wurden die Zellen 2 mal für 5 min mit PBS gewaschen, mit Fluorescent Mounting Medium beimpft und mit Deckgläsern versehen. Die Lagerung erfolgte bei 4 °C und Dunkelheit.

3.2.16 Mikroskopische Auswertung

Zur mikroskopischen Auswertung wurde ein Axiovert 200 M inverted fluorescence microscope Fluoreszenzmikroskop mit Kamera mit CCD-Sensor verwendet. Es wurde eine 630-fache Vergrößerung verwendet, und die Auszählung der γ -H2AX-Foci wurde visuell durchgeführt. Pro Blutentnahmezeitpunkt wurden von den jeweils zwei verschiedenen Stellen der Proben auf den Objektträgern jeweils mindestens 40 Zellen beurteilt. Um die Lymphozyten von Monozyten, Granulozyten und anderen Zellen unterscheiden zu können, wurden morphologische Kriterien herangezogen. Die Lymphozyten wurden mittels der Kamera und der Axiovision Software fotografiert. Um die Foci innerhalb der Zellkerne auszuzählen wurde dann die Wasabi Imaging Software verwendet.

3.2.17 Normierung auf ein einheitliches Dosislängenprodukt

Bei den unterschiedlichen in der Studie durchgeführten CT-Untersuchungen, mit unterschiedlichen untersuchten Körperregionen und individueller Anatomie der Patienten, ist eine uneinheitliche Strahlendosis verwendet worden. Die verwendete Strahlendosis ist für jeden Patienten als Dosislängenprodukt dokumentiert. Um die durch die verwendete ionisierende Strahlung bei den Patienten entstandenen Strahlenschäden in Form von DNA-Doppelstrangbrüchen miteinander vergleichen zu können, wurde im Rahmen der Auswertung in dieser Studie die Strahlendosis auf eine einheitliche Strahlendosis mit einem Dosislängenprodukt von $1000 \text{ mGy} \cdot \text{cm}$ umgerechnet. Die Formel ist in Tabelle 4 dargestellt.

$$(\text{Foci pro Zelle/DLP mGy} \cdot \text{cm}) \cdot 1000 = \text{Foci pro Zelle/1000 mGy} \cdot \text{cm}$$

Tabelle 4: **Formel zur Berechnung einer einheitlichen Strahlendosis.**

Gezeigt ist die Formel zur Umrechnung auf ein einheitliches Dosislängenprodukt (DLP) von 1000 mGy · cm.

4 Ergebnisse

4.1 CT-Untersuchungen und Patientendaten

4.1.1 Art der CT-Untersuchungen

In der Studie wurden die Lymphozyten von 47 Patienten verwendet. An den Patienten wurden zuvor unterschiedliche CT-Untersuchungen aus medizinischer Indikation durchgeführt. Diese unterschiedlichen Untersuchungen bestehen aus kombinierter Thorax (Brustkorb)- und Abdomen (Bauch)-CT, Thorax-CT, Abdomen-CT, Pelvis (Becken)-CT, Craniale (Kopf)-CT, Extremitäten (Gliedermaßen)-CT und Angiographie (Gefäße)-CT. Die Aufteilung der Patienten zur jeweiligen Untersuchungsart ist Tabelle 5 zu entnehmen.

| Art der CT- Untersuchung | Patientenzahl |
|--------------------------|---------------|
| Thorax- und Abdomen-CT | 2 |
| Thorax-CT | 24 |
| Abdomen-CT | 7 |
| Pelvis-CT | 1 |
| Craniale-CT | 4 |
| Extremitäten-CT | 7 |
| Angiographie-CT | 2 |

Tabelle 5: Art der CT-Untersuchung und Patientenzahl.

Gezeigt ist jeweils die Anzahl der Patienten an der jeweiligen CT-Untersuchungsart.

4.1.2 Resultierende Strahlenintensität

Die bei der Computertomographie einwirkende ionisierende Strahlung ist für jede Untersuchung festgehalten und als DLP aufgezeichnet. Dieses ist in Tabelle 23 (Anhang) für jeden Patienten zu sehen. Das mittlere DLP aller Patienten liegt bei 528 mGy * cm und variiert zwischen 54 mGy * cm und 2554 mGy * cm.

4.1.3 Altersstruktur der Patienten

Das mittlere Alter der Patienten betrug 56,8 Jahre \pm 17,38 (Mittelwert \pm Standardabweichung) Jahre. Der jüngste Patient war 20 Jahre alt, und der älteste Patient war 87 Jahre alt.

4.1.4 Geschlechterverteilung

An der Studie haben sich 35 männliche und 12 weibliche Patienten beteiligt. Das entspricht einem prozentualen Anteil von 74,5 % zu 25,5 %.

4.1.5 Patientendaten

Die Daten der 47 Teilnehmer der Studie sind in Tabelle 23 (Anhang) zusammengefasst. Angegeben sind: Das Alter, das Geschlecht, die Art der CT-Untersuchung und das resultierende DLP.

4.2 Y-H2AX-Foci nach Computertomographie als quantitativer Nachweis von DNA-Doppelstrangbrüchen

4.2.1 Y-H2A-Foci in der Fluoreszenzmikroskopie

Im Rahmen der vorliegenden Studie wurde zur quantitativen Feststellung von DNA-Doppelstrangbrüchen die Entstehung von γ -H2AX-Foci mittels Immunostaining ausgewertet. Untersucht wurden die Lymphozyten von Patienten auf das Vorliegen von γ -H2AX-Foci als Indikator für das Ausmaß von Schäden durch während einer CT-Untersuchung verwendete ionisierende Strahlung. Die γ -H2AX-Foci wurden mittels Fluoreszenzmikroskopie visuell ermittelt. Ein DNA-Doppelstrangbruch erscheint nach Immunhistochemischer Behandlung in der Fluoreszenzmikroskopie als ein fluoreszierender Focus.

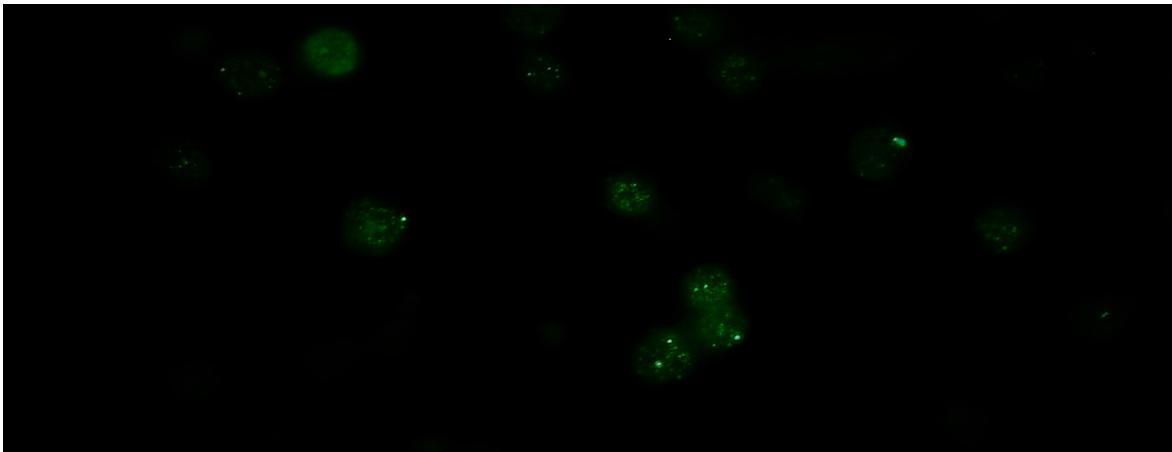


Abbildung 5: Y-H2AX-Foci in der Fluoreszenzmikroskopie.

Gezeigt sind γ -H2AX-Foci in Lymphozyten eines Patienten der Studie in der Fluoreszenzmikroskopie.

Abbildung 5 zeigt DNA-Doppelstrangbrüche in Lymphozyten eines Patienten der Studie (Anhang, Tabelle 23, Patient Nr. 17) als fluoreszierende Foci im Fluoreszenzmikroskop. Der primäre Antikörper

Anti-phospho-Histone 2A.X (Ser139), clone JBW301 (mouse monoclonal IgG1) wurde aufgegeben und bindet an die vorhandenen γ -H2AX-Foci. Mit Hilfe des fluoreszierenden sekundären Antikörpers Goat Anti-Mouse IgG conjugate PF-488 sind die Foci mittels der Axiovision Software in der Fluoreszenzmikroskopie in grüner Farbe zu erkennen.

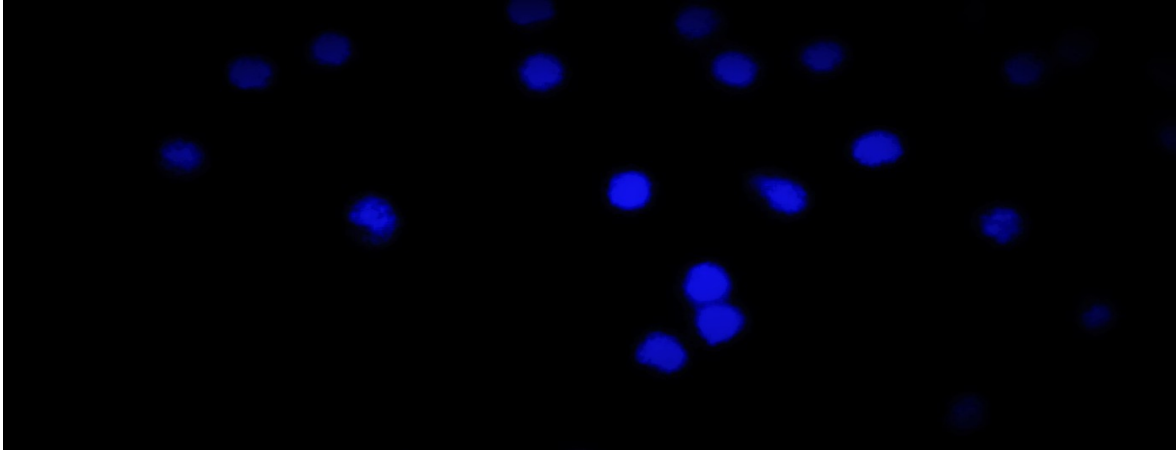


Abbildung 6: Zellkerne in der Fluoreszenzmikroskopie.

Gezeigt sind die Zellkerne der Lymphozyten, des selben Patienten wie in Abbildung 5, in der Fluoreszenzmikroskopie.

Abbildung 6 zeigt die Zellkerne der Lymphozyten, des selben Patienten wie in Abbildung 5, mittels der DAPI-Färbung. Im Fluoreszenzmikroskop und mittels der Axiovision Software betrachtet fluoreszieren die Zellkerne in blauer Farbe.

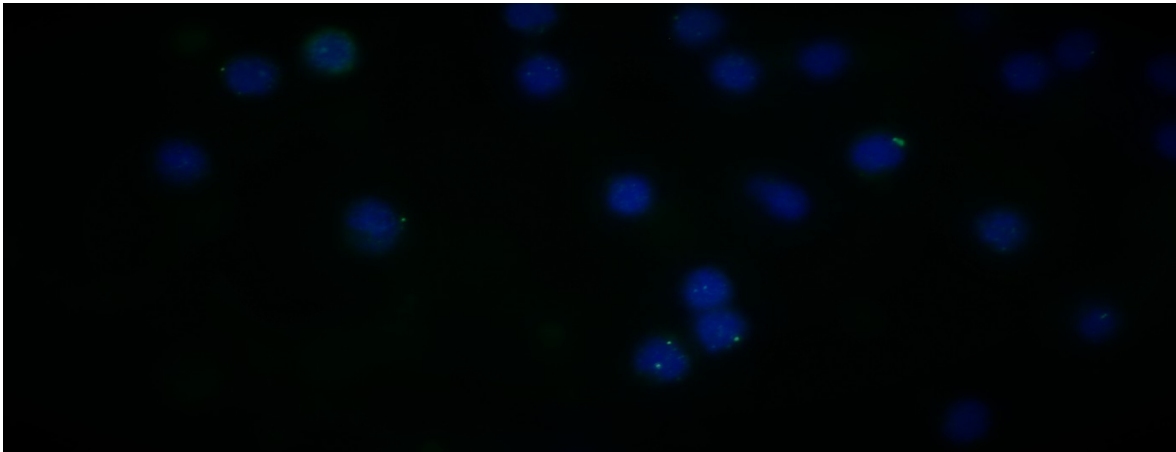


Abbildung 7: Y-H2AX-Foci und Zellkerne in der Fluoreszenzmikroskopie.

Gezeigt sind die γ -H2AX-Foci und die Zellkerne der Lymphozyten, des selben Patienten wie in Abbildung 5 und in Abbildung 6, in der Fluoreszenzmikroskopie.

In Abbildung 7 sind die γ -H2A-Foci und die Zellkerne in den Lymphozyten des selben Patienten wie in Abbildung 5 und in Abbildung 6 dargestellt. Mittels der Axiovision Software und der Wasabi Imaging Software können die Bilder der γ -H2A-Foci und die Bilder der Zellkerne zusammen dargestellt werden. Es zeigt sich dass die γ -H2A-Foci in den Zellkernen der Lymphozyten liegen.

4.2.2 Y-H2AX-Foci aller Patienten

Es wurden die Lymphozyten aller Teilnehmer der Studie auf die gleiche Weise gewonnen, aufbereitet, weiterbehandelt und ausgewertet. Die durch Immunfluoreszenz im Fluoreszenzmikroskop ermittelte Anzahl der Foci pro Zelle bei jedem Patienten zum jeweiligen Blutentnahmezeitpunkt ist in Tabelle 6 zu sehen. Die Patienten sind mit den Zahlen 1 bis 47 aufgeführt und es sind jeweils die Zeitpunkte der Blutentnahme, bezogen auf den Zeitpunkt der CT-Untersuchung, gezeigt.

| Patienten- nummer | Foci Zeitpunkt t 1 | Foci Zeitpunkt t 2 | Foci Zeitpunkt t 3 | Foci Zeitpunkt t 4 | Foci Zeitpunkt t 5 |
|------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| 1 | 0,031 | 0,098 | 0,090 | 0,056 | 0,018 |
| 2 | 0,000 | 0,091 | 0,067 | 0,049 | 0,044 |
| 3 | 0,067 | 0,127 | 0,109 | 0,094 | 0,093 |
| 4 | 0,000 | 0,014 | 0,120 | 0,075 | 0,000 |
| 5 | 0,073 | 0,150 | 0,140 | 0,116 | 0,108 |
| 6 | 0,020 | 0,214 | 0,135 | 0,115 | 0,000 |
| 7 | 0,021 | 0,167 | 0,111 | 0,067 | 0,000 |
| 8 | 0,018 | 0,127 | 0,109 | 0,082 | 0,034 |
| 9 | 0,072 | 0,357 | 0,066 | 0,060 | 0,052 |
| 10 | 0,044 | 0,151 | 0,088 | 0,068 | 0,000 |
| 11 | 0,067 | 0,140 | 0,125 | 0,073 | 0,070 |
| 12 | 0,018 | 0,340 | 0,183 | 0,125 | 0,000 |
| 13 | 0,036 | 0,204 | 0,091 | 0,083 | 0,063 |
| 14 | 0,058 | 0,155 | 0,153 | 0,115 | 0,069 |
| 15 | 0,043 | 0,617 | 0,067 | 0,102 | 0,087 |
| 16 | 0,045 | 0,094 | 0,085 | 0,068 | 0,227 |
| 17 | 0,043 | 0,245 | 0,167 | 0,059 | 0,048 |
| 18 | 0,022 | 0,175 | 0,122 | 0,102 | 0,045 |
| 19 | 0,014 | 0,149 | 0,086 | 0,061 | 0,023 |
| 20 | 0,028 | 0,100 | 0,082 | 0,073 | 0,044 |
| 21 | 0,000 | 0,216 | 0,136 | 0,073 | 0,043 |
| 22 | 0,068 | 0,148 | 0,125 | 0,114 | 0,093 |
| 23 | 0,019 | 0,083 | 0,082 | 0,041 | 0,017 |
| 24 | 0,059 | 0,280 | 0,146 | 0,094 | 0,066 |
| 25 | 0,036 | 0,143 | 0,130 | 0,085 | 0,065 |
| 26 | 0,038 | 0,123 | 0,100 | 0,053 | 0,055 |
| 27 | 0,021 | 0,362 | 0,348 | 0,300 | 0,118 |
| 28 | 0,061 | 0,412 | 0,364 | 0,182 | 0,000 |
| 29 | 0,032 | 0,084 | 0,070 | 0,068 | 0,044 |

| | | | | | |
|----|-------|-------|-------|-------|-------|
| 30 | 0,058 | 0,317 | 0,234 | 0,104 | 0,050 |
| 31 | 0,038 | 0,149 | 0,071 | 0,061 | 0,020 |
| 32 | 0,000 | 0,188 | 0,161 | 0,122 | 0,088 |
| 33 | 0,133 | 0,286 | 0,234 | 0,209 | 0,140 |
| 34 | 0,021 | 0,429 | 0,095 | 0,077 | 0,049 |
| 35 | 0,021 | 0,156 | 0,109 | 0,095 | 0,058 |
| 36 | 0,034 | 0,117 | 0,080 | 0,074 | 0,027 |
| 37 | 0,050 | 0,183 | 0,132 | 0,052 | 0,048 |
| 38 | 0,064 | 0,304 | 0,277 | 0,145 | 0,083 |
| 39 | 0,021 | 0,237 | 0,093 | 0,100 | 0,095 |
| 40 | 0,021 | 0,094 | 0,048 | 0,038 | 0,023 |
| 41 | 0,163 | 0,220 | 0,143 | 0,354 | 0,174 |
| 42 | 0,163 | 0,236 | 0,109 | 0,188 | 0,070 |
| 43 | 0,087 | 0,200 | 0,167 | 0,144 | 0,111 |
| 44 | 0,037 | 0,083 | 0,056 | 0,038 | 0,019 |
| 45 | 0,039 | 0,105 | 0,093 | 0,053 | 0,045 |
| 46 | 0,061 | 0,178 | 0,109 | 0,085 | 0,059 |
| 47 | 0,171 | 0,256 | 0,162 | 0,133 | 0,114 |

Tabelle 6: Y-H2AX-Foci aller Patienten.

Gezeigt sind jeweils die y-H2AX-Foci pro Zelle jedes Patienten, zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5.

4.2.3 Mittelwert der y-H2AX-Foci aller Patienten

Die durch Immunostaining ermittelten Mittelwerte der Anzahl der Foci pro Zelle, aller Patienten zusammengefasst, zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5, sind in Tabelle 7 und Abbildung 8 dargestellt.

| | Foci Zeitpunkt t 1 | Foci Zeitpunkt t 2 | Foci Zeitpunkt t 3 | Foci Zeitpunkt t 4 | Foci Zeitpunkt t 5 |
|--|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Mittelwerte aller Patienten | 0,048 ± 0,040 | 0,198 ± 0,111 | 0,129 ± 0,067 | 0,101 ± 0,061 | 0,060 ± 0,046 |

Tabelle 7: Mittelwerte der γ-H2AX-Foci aller Patienten.

Gezeigt sind die Mittelwerte ± Standardabweichung der γ-H2AX-Foci pro Zelle, aller Patienten, zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5.

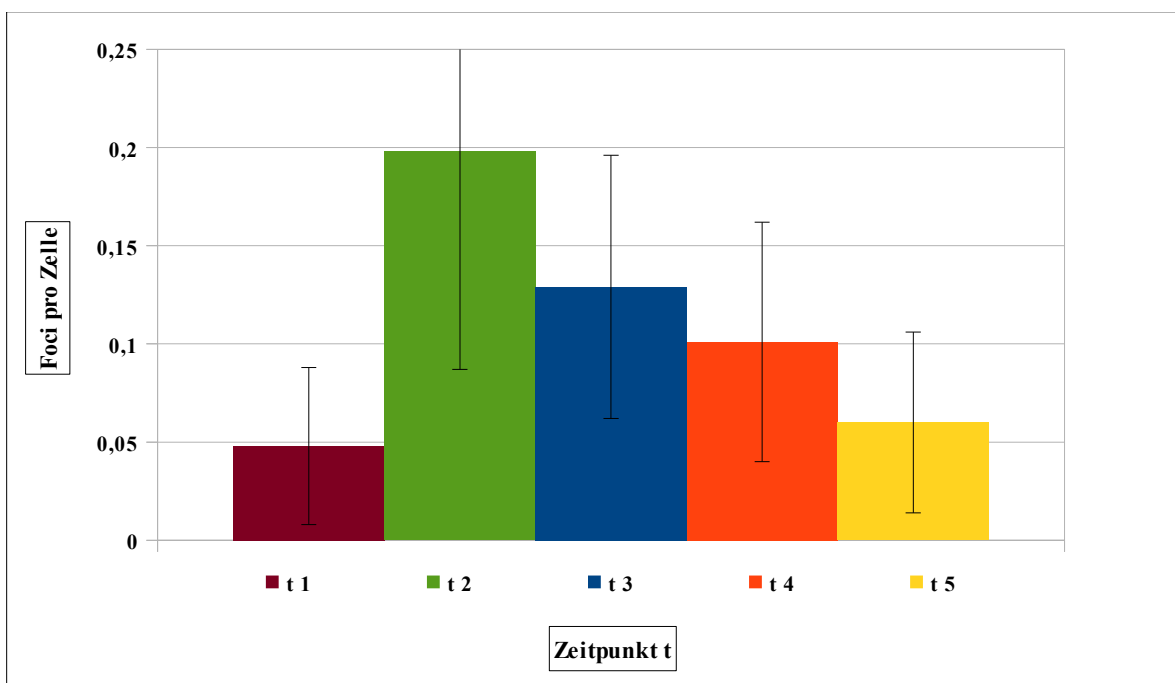


Abbildung 8: Mittelwerte der γ-H2AX-Foci aller Patienten.

Gezeigt sind die Mittelwerte ± Standardabweichung der γ-H2AX-Foci pro Zelle, aller Patienten, zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5.

Bei den Patienten der Studie beträgt der Mittelwert der Basisanzahl der Foci zum Zeitpunkt t 1, unmittelbar vor der CT-Untersuchung, 0,048 ± 0,040 (Mittelwert ± Standardabweichung) Foci pro Zelle. Zum Zeitpunkt t 2, 5 Minuten nach der CT-Untersuchung, steigt der Wert der Foci auf einen Mittelwert von

0,198 ± 0,111 (Mittelwert ± Standardabweichung) Foci pro Zelle. Dies entspricht einer Erhöhung der Anzahl der Foci pro Zelle um 413 %. Zum Zeitpunkt t 3, 1 Stunde nach der CT-Untersuchung, fällt der Mittelwert der Anzahl der Foci wieder ab, auf 0,129 ± 0,067 (Mittelwert ± Standardabweichung) Foci pro Zelle. Damit liegt der Mittelwert der Foci pro Zelle bei 65 % der Anzahl der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2, 5 Minuten nach der CT-Untersuchung. Zum Zeitpunkt t 4, 2 Stunden nach der CT-Untersuchung, fällt der Mittelwert der Foci weiter ab, auf 0,101 ± 0,061 (Mittelwert ± Standardabweichung) Foci pro Zelle und damit auf 50 % von Zeitpunkt t 2, 5 Minuten nach der CT-Untersuchung. Zum Zeitpunkt t 5, 24 Stunden nach der CT-Untersuchung, liegt der Wert der Foci bei einem Mittelwert von 0,060 ± 0,046 (Mittelwert ± Standardabweichung) Foci pro Zelle und damit bei 30 % von t 2, 5 Minuten nach der CT-Untersuchung.

Es lässt sich bei den Patienten eine inhomogene Anzahl von DNA-Doppelstrangbrüchen vor der Einwirkung der ionisierenden Strahlung durch die CT-Untersuchung erkennen. Der Basiswert der Foci unmittelbar vor der Intervention liegt im Bereich zwischen 0 und 0,171 Foci pro Zelle. Des Weiteren lässt sich bei allen Patienten ein deutlicher Anstieg von DNA-Doppelstrangbrüchen nach der Intervention feststellen. Die Anzahl der Foci liegt dann zwischen 0,083 und 0,617 Foci pro Zelle. Zu den Zeitpunkten t 3 bis t 5 ist im Mittelwert aller Patienten zu beobachten, dass die Zahl der Foci pro Zelle kontinuierlich abfällt. Nach 24 Stunden liegen die Foci im Bereich zwischen 0 und 0,227 Foci pro Zelle. Bei 22 der 47 Patienten wird der Basiswert wieder erreicht oder unterschritten. Dies entspricht einem Prozentsatz von 47 %. Bei den übrigen 53 % der Patienten liegt die Anzahl der Foci pro Zelle nach 24 Stunden über dem Basiswert, unmittelbar vor der Einwirkung der ionisierenden Strahlung.

4.2.4 Y-H2AX-Foci aller Patienten, normiert auf ein Dosislängenprodukt von 1000 mGy * cm

Bei den unterschiedlichen in der Studie durchgeführten CT-Untersuchungen, mit unterschiedlichen untersuchten Körperregionen und individueller Anatomie der Patienten, ist eine uneinheitliche Strahlendosis verwendet worden. Die verwendete Strahlendosis ist für jeden Patienten als Dosislängenprodukt dokumentiert. Um die durch die verwendete ionisierende Strahlung bei den Patienten entstandenen Strahlenschäden in Form von DNA-Doppelstrangbrüchen miteinander vergleichen zu können, wurde im Rahmen der Auswertung in dieser Studie, wie in vergleichbaren vorherigen Studien, die Strahlendosis auf eine einheitliche Strahlendosis mit einem Dosislängenprodukt von 1000 mGy * cm umgerechnet (Lobrich, Rief, Kühne, Heckmann, Fleckenstein, Rübe, Uder 2005; Piechowiak, Peter, Kleb, Klose, Heverhagen 2015). Die durch Immunfluoreszenz ermittelte Anzahl der Foci bei jedem Patienten, normiert auf ein Dosislängenprodukt von 1000 mGy * cm, zum jeweiligen Untersuchungszeitpunkt t ist in Tabelle 8 zu sehen. Die Foci zum Untersuchungszeitpunkt t 1, vor der Einwirkung der ionisierenden Strahlung, sind unverändert zu den Foci zum Untersuchungszeitpunkt t 1 in Tabelle 7. Die Patienten sind mit den Zahlen 1 bis 47 aufgeführt, und es sind jeweils die Zeitpunkte der Blutentnahme, bezogen auf den Zeitpunkt der CT-Untersuchung, gezeigt.

| Patienten- nummer | Foci Zeitpunkt t 1 (unver- ändert) | Foci Zeitpunkt t 2 | Foci Zeitpunkt t 3 | Foci Zeitpunkt t 4 | Foci Zeitpunkt t 5 |
|------------------------------|---|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| 1 | 0,031 | 0,038 | 0,035 | 0,022 | 0,007 |
| 2 | 0,000 | 0,481 | 0,354 | 0,259 | 0,233 |
| 3 | 0,067 | 0,572 | 0,491 | 0,423 | 0,419 |
| 4 | 0,000 | 0,013 | 0,112 | 0,070 | 0,000 |
| 5 | 0,073 | 1,765 | 1,647 | 1,365 | 1,271 |
| 6 | 0,020 | 0,104 | 0,066 | 0,056 | 0,000 |
| 7 | 0,021 | 0,562 | 0,374 | 0,226 | 0,000 |
| 8 | 0,018 | 0,188 | 0,161 | 0,121 | 0,050 |
| 9 | 0,072 | 0,986 | 0,182 | 0,166 | 0,144 |
| 10 | 0,044 | 2,745 | 1,600 | 1,236 | 0,000 |
| 11 | 0,067 | 0,707 | 0,631 | 0,369 | 0,354 |
| 12 | 0,018 | 6,296 | 3,389 | 2,315 | 0,000 |
| 13 | 0,036 | 0,602 | 0,268 | 0,245 | 0,186 |
| 14 | 0,058 | 0,154 | 0,152 | 0,115 | 0,069 |
| 15 | 0,043 | 0,662 | 0,072 | 0,109 | 0,093 |
| 16 | 0,045 | 0,094 | 0,085 | 0,068 | 0,227 |
| 17 | 0,043 | 0,450 | 0,306 | 0,108 | 0,088 |
| 18 | 0,022 | 0,414 | 0,288 | 0,241 | 0,106 |
| 19 | 0,014 | 0,690 | 0,398 | 0,282 | 0,106 |
| 20 | 0,028 | 0,313 | 0,257 | 0,229 | 0,138 |
| 21 | 0,000 | 0,380 | 0,239 | 0,128 | 0,076 |
| 22 | 0,068 | 0,587 | 0,496 | 0,452 | 0,369 |
| 23 | 0,019 | 0,237 | 0,234 | 0,117 | 0,049 |
| 24 | 0,059 | 0,878 | 0,458 | 0,295 | 0,207 |
| 25 | 0,038 | 0,367 | 0,333 | 0,218 | 0,167 |
| 26 | 0,036 | 0,559 | 0,455 | 0,241 | 0,250 |
| 27 | 0,021 | 0,699 | 0,672 | 0,579 | 0,228 |
| 28 | 0,061 | 1,062 | 0,938 | 0,469 | 0,000 |

| | | | | | |
|----|-------|-------|-------|-------|-------|
| 29 | 0,032 | 0,364 | 0,303 | 0,294 | 0,190 |
| 30 | 0,058 | 0,975 | 0,720 | 0,320 | 0,154 |
| 31 | 0,000 | 0,495 | 0,236 | 0,203 | 0,066 |
| 32 | 0,021 | 0,764 | 0,654 | 0,496 | 0,358 |
| 33 | 0,133 | 1,177 | 0,963 | 0,860 | 0,576 |
| 34 | 0,038 | 0,528 | 0,117 | 0,095 | 0,060 |
| 35 | 0,021 | 0,678 | 0,474 | 0,413 | 0,252 |
| 36 | 0,034 | 0,330 | 0,225 | 0,208 | 0,076 |
| 37 | 0,050 | 0,203 | 0,137 | 0,058 | 0,053 |
| 38 | 0,064 | 0,545 | 0,496 | 0,260 | 0,149 |
| 39 | 0,021 | 0,727 | 0,285 | 0,307 | 0,291 |
| 40 | 0,021 | 0,104 | 0,053 | 0,042 | 0,026 |
| 41 | 0,163 | 0,113 | 0,073 | 0,181 | 0,089 |
| 42 | 0,163 | 0,329 | 0,152 | 0,262 | 0,098 |
| 43 | 0,087 | 2,564 | 2,141 | 1,846 | 1,423 |
| 44 | 0,039 | 0,337 | 0,228 | 0,154 | 0,077 |
| 45 | 0,037 | 0,425 | 0,377 | 0,215 | 0,182 |
| 46 | 0,061 | 0,560 | 0,343 | 0,267 | 0,186 |
| 47 | 0,171 | 1,099 | 0,695 | 0,571 | 0,489 |

Tabelle 8: Y-H2AX-Foci aller Patienten, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm.

Gezeigt sind jeweils die y-H2AX-Foci pro Zelle, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, jedes Patienten, zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5.

4.2.5 Mittelwerte der y-H2AX-Foci aller Patienten, normiert auf ein Dosislängenprodukt von 1000 mGy * cm

Die durch Immunostaining ermittelten Mittelwerte der Anzahl der Foci pro Zelle aller Patienten zusammengefasst, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5, sind in Tabelle 9 und Abbildung 9 dargestellt.

| | Foci Zeitpunkt t 1 (unver- ändert) | Foci Zeitpunkt t 2 | Foci Zeitpunkt t 3 | Foci Zeitpunkt t 4 | Foci Zeitpunkt t 5 |
|---|---|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Mittelwerte aller Patienten, bei DLP 1000 mGy * cm | 0,048 ± 0,040 | 0,743 ± 0,983 | 0,497 ± 0,600 | 0,374 ± 0,450 | 0,205 ± 0,275 |

Tabelle 9: Mittelwerte der γ -H2AX-Foci aller Patienten, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm.

Gezeigt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung der γ -H2AX-Foci pro Zelle, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, aller Patienten, zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5.

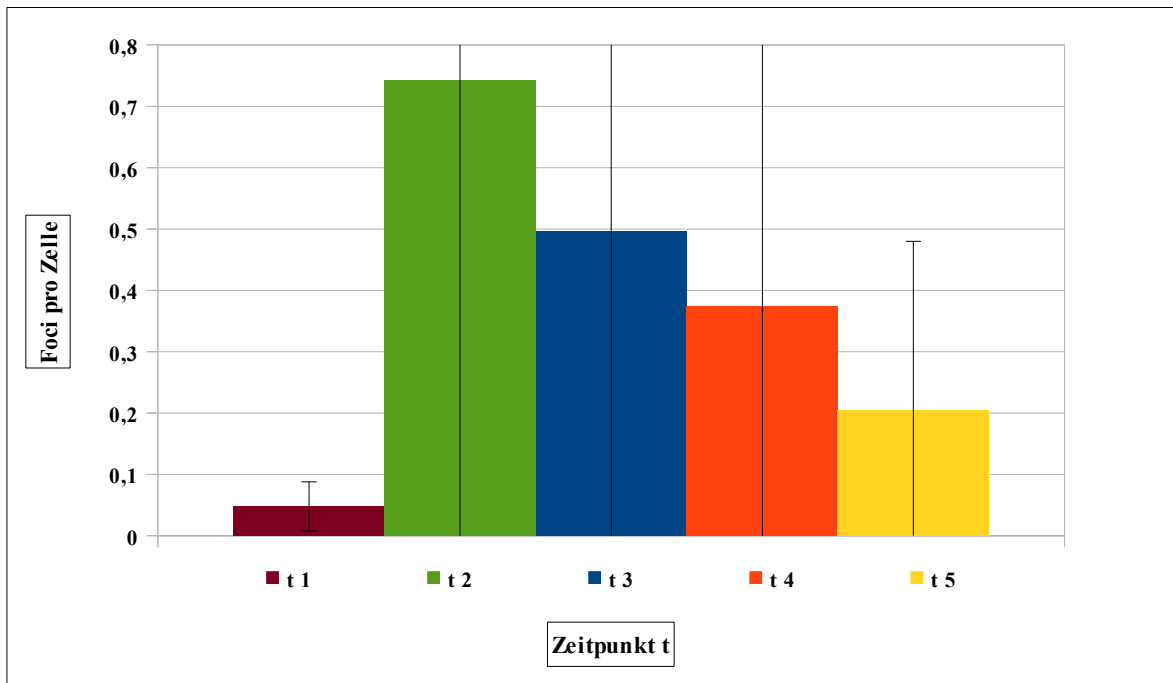


Abbildung 9: Mittelwerte der y-H2AX-Foci aller Patienten, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm.

Gezeigt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung der y-H2AX-Foci pro Zelle, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, aller Patienten, zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5.

Nach Normierung auf ein Dosislängenprodukt von 1000 mGy * cm zeigt sich zum Zeitpunkt t 2, 5 min nach der CT-Untersuchung, ein Mittelwert von $0,743 \pm 0,983$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) Foci pro Zelle. Die durchschnittliche Anzahl der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2, gegenüber Zeitpunkt t 1, ist um 1548 % erhöht. Nach 1 Stunde (t 3) sinkt der Mittelwert auf $0,497 \pm 0,600$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) Foci pro Zelle. Damit liegt der Mittelwert bei 67 % der Anzahl der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2, 5 min nach der CT-Untersuchung. Nach 2 Stunden (t 4) sinkt der Mittelwert weiter, auf $0,374 \pm 0,450$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) Foci pro Zelle und damit auf 50 % von Zeitpunkt t 2. 24 Stunden (t 5) nach der Einwirkung der ionisierenden Strahlung durch die CT-Untersuchung liegt der Mittelwert bei $0,205 \pm 0,275$

(Mittelwert \pm Standardabweichung) Foci pro Zelle und damit bei 28 % von Zeitpunkt t 2. Nach Normierung auf ein Dosislängenprodukt von 1000 mGy * cm lässt sich bei allen Patienten, ebenso wie in der Auswertung ohne Normierung, ein deutlicher Anstieg von DNA-Doppelstrangbrüchen zum Zeitpunkt t 2, nach der Intervention, gegenüber Zeitpunkt t 1, unmittelbar vor der Intervention, feststellen. Die Anzahl der Foci zum Zeitpunkt t 2 liegt zwischen 0,013 und 6,296 Foci pro Zelle. Zu den Zeitpunkten t 3 bis t 5 ist im Durchschnitt aller Patienten zu beobachten, ebenso wie in der Auswertung ohne Normierung, dass die Anzahl der Foci pro Zelle kontinuierlich abfällt. Nach 24 Stunden liegen die Foci im Bereich zwischen 0 und 1,423 Foci pro Zelle. In der vorliegenden Studie werden im Folgenden zur weiteren Auswertung die Foci pro Zelle normiert auf ein Dosislängenprodukt von 1000 mGy * cm verwendet.

4.3 Einfluss des Alters auf die Entstehung von γ -H2AX-Foci und deren Reparatur

4.3.1 Mittelwerte der γ -H2AX-Foci der Patienten pro Altersgruppe zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5

Im Rahmen der Studie wird die Anzahl der entstehenden DNA-Doppelstrangbrüche, als γ -H2AX-Foci, durch die Einwirkung ionisierender Strahlung durch eine CT-Untersuchung und die Entwicklung im Laufe der Zeit über insgesamt 24 Stunden, nach unterschiedlichen Altersgruppen getrennt, untersucht. Die 47 Patienten der Studie wurden in 7 Altersgruppen im Abstand von 10 Jahren, im Alter von 20 Jahre bis 89 Jahren, eingeteilt. Tabelle 10 und Abbildung 10 zeigen für jede Altersgruppe den Mittelwert der Anzahl der Foci pro Zelle zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5.

| Mittelwerte Altersgruppe | Foci Zeitpunkt t 1 | Foci Zeitpunkt t 2 | Foci Zeitpunkt t 3 | Foci Zeitpunkt t 4 | Foci Zeitpunkt t 5 |
|-------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 20 bis 29 Jahre | 0,034 ± 0,031 | 0,597 ± 0,618 | 0,528 ± 0,583 | 0,428 ± 0,490 | 0,386 ± 0,469 |
| 30 bis 39 Jahre | 0,040 ± 0,022 | 0,882 ± 0,885 | 0,502 ± 0,524 | 0,362 ± 0,403 | 0,091 ± 0,128 |
| 40 bis 49 Jahre | 0,039 ± 0,014 | 1,929 ± 2,529 | 0,970 ± 1,398 | 0,696 ± 0,936 | 0,087 ± 0,067 |
| 50 bis 59 Jahre | 0,030 ± 0,020 | 0,396 ± 0,177 | 0,288 ± 0,114 | 0,203 ± 0,118 | 0,145 ± 0,098 |
| 60 bis 69 Jahre | 0,043 ± 0,032 | 0,712 ± 0,256 | 0,527 ± 0,256 | 0,374 ± 0,198 | 0,209 ± 0,145 |
| 70 bis 79 Jahre | 0,075 ± 0,055 | 0,614 ± 0,763 | 0,447 ± 0,654 | 0,396 ± 0,555 | 0,276 ± 0,440 |
| 80 bis 89 Jahre | 0,077 ± 0,055 | 0,605 ± 0,296 | 0,411 ± 0,173 | 0,302 ± 0,161 | 0,234 ± 0,154 |

Tabelle 10: Mittelwerte der γ -H2AX-Foci, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, der Patienten pro Altersgruppe, zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5.

Gezeigt ist jeweils der Mittelwert \pm Standardabweichung der γ -H2AX-Foci pro Zelle normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, der Patienten pro Altersgruppe zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5.

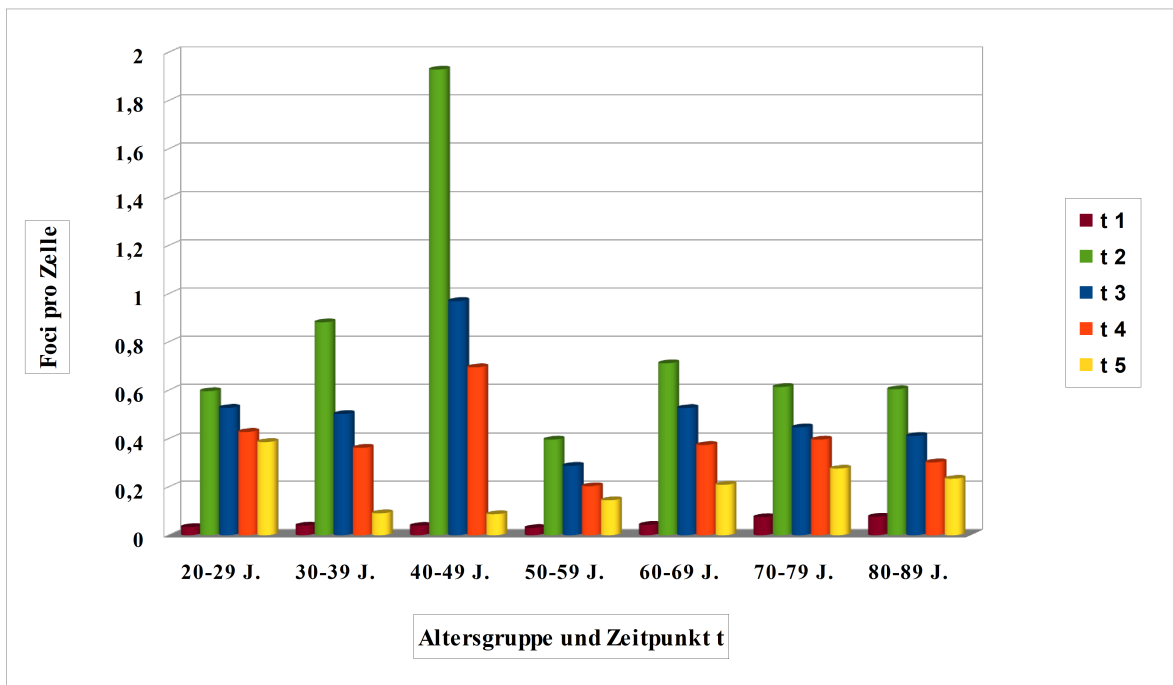


Abbildung 10: Mittelwerte der γ -H2AX-Foci, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, der Patienten pro Altersgruppe, zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5.

Gezeigt ist jeweils der Mittelwert der γ -H2AX-Foci pro Zelle, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, der Patienten pro Altersgruppe zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5.

Die Patienten sind in folgende Altersgruppen eingeteilt: Altersgruppe 1 im Alter von 20 bis 29 Jahre, Altersgruppe 2 im Alter von 30 bis 39 Jahre, Altersgruppe 3 im Alter von 40 bis 49 Jahre, Altersgruppe 4 im Alter von 50 bis 59 Jahre, Altersgruppe 5 im Alter von 60 bis 69 Jahre, Altersgruppe 6 im Alter von 70 bis 79 Jahre und Altersgruppe 7 im Alter von 80 bis 89 Jahre. In der Betrachtung der Mittelwerte der Foci pro Zelle der einzelnen Altersgruppen lässt sich, wie in der Betrachtung der Mittelwerte der Foci pro Zelle des gesamten Patientenkollektivs, für jede einzelne Altersgruppe ein Anstieg der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 gegenüber Zeitpunkt t 1 beobachten. Ebenso zeigt sich für jede Altersgruppe ein kontinuierlicher Abfall der Mittelwerte der Foci pro Zelle zu den Zeitpunkten t 3 bis t 5 gegenüber Zeitpunkt t 2, Zum Zeitpunkt t 5 liegen die Mittelwerte der Foci pro Zelle bei jeder Altersgruppe über dem Mittelwert der Foci pro Zelle

zum Zeitpunkt t 1.

4.3.2 Altersgruppe 20 bis 29 Jahre

Tabelle 11 und Abbildung 11 zeigen die Mittelwerte der Foci pro Zelle zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5 in der Altersgruppe 20 bis 29 Jahre.

| | Foci Zeitpunkt t 1 | Foci Zeitpunkt t 2 | Foci Zeitpunkt t 3 | Foci Zeitpunkt t 4 | Foci Zeitpunkt t 5 |
|---|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Mittelwerte Altersgruppe 20-29 Jahre | 0,034 ± 0,031 | 0,597 ± 0,618 | 0,528 ± 0,583 | 0,428 ± 0,490 | 0,386 ± 0,469 |

Tabelle 11: Mittelwerte der γ -H2AX-Foci der Altersgruppe 20-29 Jahre.

Gezeigt sind die Mittelwert \pm Standardabweichung der γ -H2AX-Foci pro Zelle, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, der Patienten der Altersgruppe 20-29 Jahre zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5.

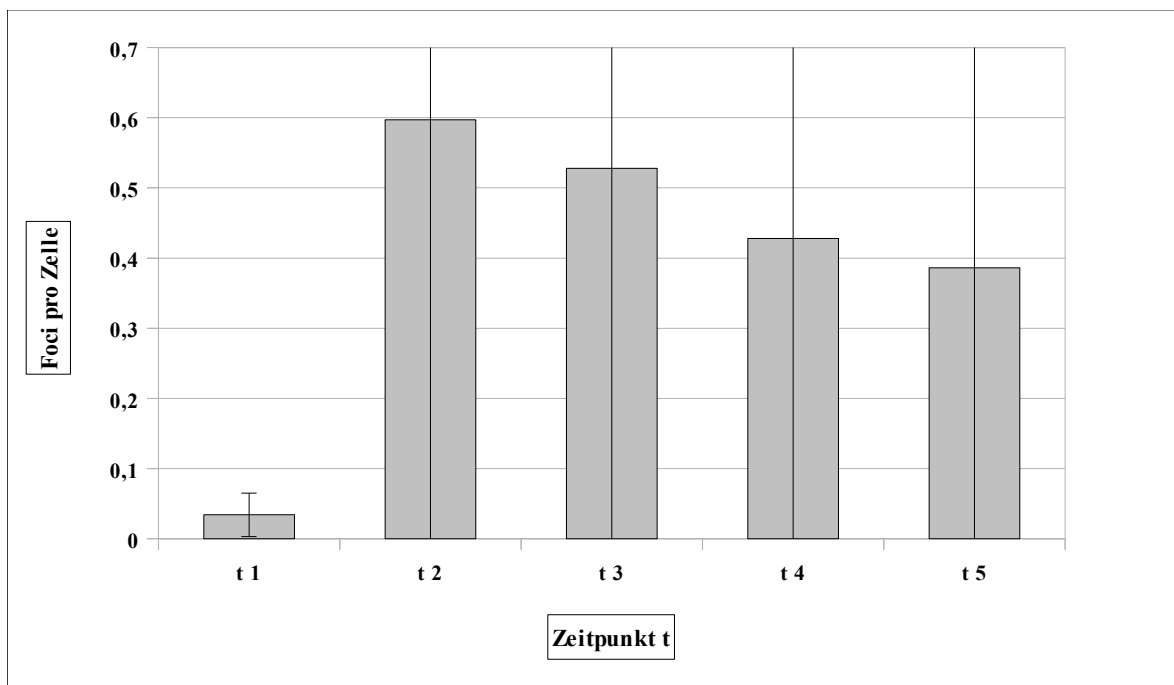


Abbildung 11: Mittelwerte der y-H2AX-Foci der Altersgruppe 20-29 Jahre.

Gezeigt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung der y-H2AX-Foci pro Zelle, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, der Patienten der Altersgruppe 20-29 Jahre zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5.

In der Altersgruppe 20 bis 29 Jahre sind die jüngsten Patienten der Studie gezeigt. Insgesamt sind 5 Patienten erfasst. Die Datenerhebung erfolgte zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5 entsprechend der Zeitpunkte der Datenerhebung bei allen Patienten der Studie. Tabelle 11 und Abbildung 11 zeigen die Mittelwerte der Foci pro Zelle zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5 der Patienten im Alter von 20 bis 29 Jahren. Der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 1 beträgt $0,034 \pm 0,031$ (Mittelwert \pm Standardabweichung). Verglichen mit dem Mittelwert der Foci pro Zelle des gesamten Patientenkollektivs zum Zeitpunkt t 1, ist die Anzahl der Foci pro Zelle um den Faktor 0,71 vermindert. Zum Zeitpunkt t 2 liegt die Anzahl der Foci pro Zelle bei $0,597 \pm 0,618$ (Mittelwert \pm Standardabweichung). Die Anzahl der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 ist gegenüber Zeitpunkt t 1 um 1756 % erhöht. Zum Zeitpunkt t 2 zeigt sich, wie in der Betrachtung der Mittelwerte der Foci pro

Zelle des gesamten Patientenkollektivs zum Zeitpunkt t 2, die größte Anzahl der Mittelwerte der Foci pro Zelle. Im Vergleich zum Mittelwert des gesamten Patientenkollektivs ist der Wert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 um den Faktor 0,80 vermindert. Zum Zeitpunkt t 3 liegt der Wert bei $0,528 \pm 0,583$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) Foci pro Zelle und ist im Vergleich zu Zeitpunkt t 2 rückläufig. Die Anzahl der Foci pro Zelle ist um den Faktor 1,06 erhöht im Vergleich zu Zeitpunkt t 3 des gesamten Patientenkollektivs. Zum Zeitpunkt t 4 liegt der Wert bei $0,428 \pm 0,490$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) Foci pro Zelle und ist weiter rückläufig. Verglichen mit dem gesamten Patientenkollektiv ist der Wert der Foci pro Zelle um den Faktor 1,14 erhöht. Zum Zeitpunkt t 5 beträgt die Anzahl $0,386 \pm 0,469$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) Foci pro Zelle. 24 Stunden nach der Einwirkung der ionisierenden Strahlung ist der Wert der Foci pro Zelle gegenüber dem Wert unmittelbar vor der Einwirkung der ionisierenden Strahlung um 1135 % erhöht. Gegenüber dem gesamten Patientenkollektiv ist die Anzahl der Foci pro Zelle um den Faktor 1,88 erhöht.

4.3.3 Altersgruppe 30 bis 39 Jahre

Tabelle 12 und Abbildung 12 zeigen die Mittelwerte der Foci pro Zelle zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5 in der Altersgruppe 30 bis 39 Jahre.

| | Foci Zeitpunkt t 1 | Foci Zeitpunkt t 2 | Foci Zeitpunkt t 3 | Foci Zeitpunkt t 4 | Foci Zeitpunkt t 5 |
|---|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Mittelwerte Altersgruppe 30-39 Jahre | 0,040 ± 0,022 | 0,882 ± 0,885 | 0,502 ± 0,524 | 0,362 ± 0,403 | 0,091 ± 0,128 |

Tabelle 12: Mittelwerte der y-H2AX-Foci der Altersgruppe 30-39 Jahre.

Gezeigt sind die Mittelwerte ± Standardabweichung der y-H2AX-Foci pro Zelle, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, der Patienten der Altersgruppe 30-39 Jahre zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5.

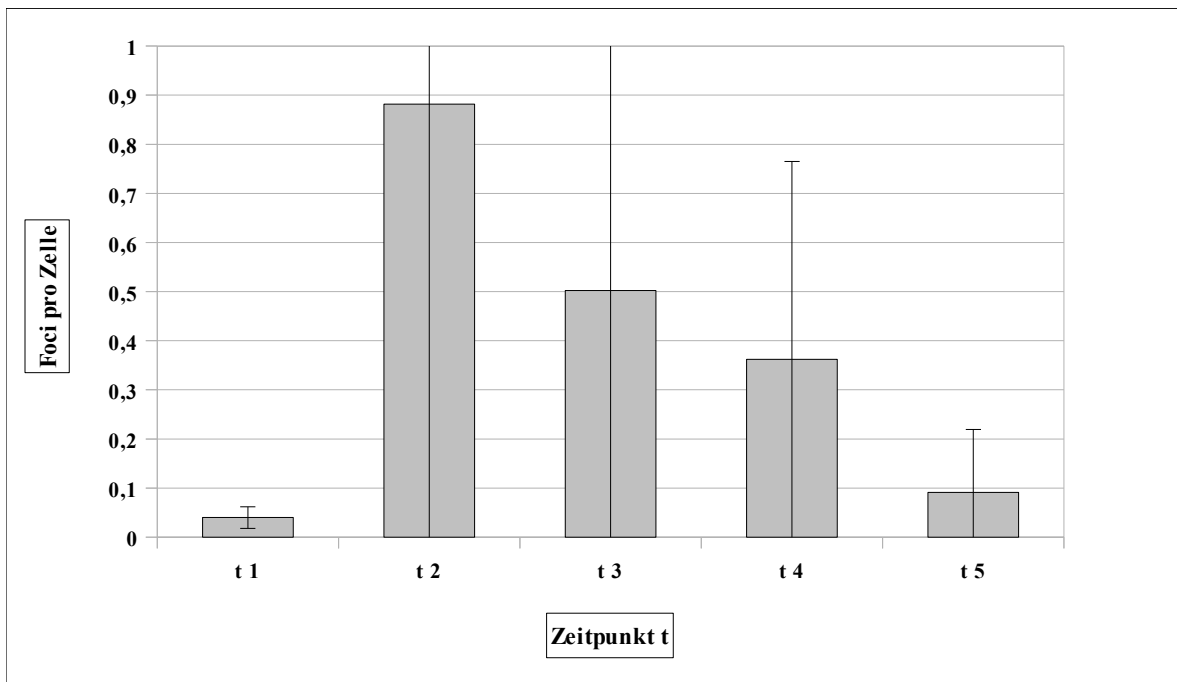


Abbildung 12: Mittelwerte der y-H2AX-Foci der Altersgruppe 30-39 Jahre.

Gezeigt sind die Mittelwerte ± Standardabweichung der y-H2AX-Foci pro Zelle, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, der Patienten der Altersgruppe 30-39 Jahre zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5.

In der Altersgruppe 30 bis 39 Jahre sind insgesamt 6 Patienten erfasst. Die Datenerhebung erfolgte zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5, entsprechend der Zeitpunkte der Datenerhebung bei allen Patienten der Studie. Tabelle 12 und

Abbildung 12 zeigen die Mittelwerte der Foci pro Zelle zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5 der Patienten im Alter von 30 bis 39 Jahren. Der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 1 beträgt $0,040 \pm 0,022$ (Mittelwert \pm Standardabweichung). Verglichen mit dem Mittelwert der Foci pro Zelle des gesamten Patientenkollektivs zum Zeitpunkt t 1 ist die Anzahl der Foci pro Zelle um den Faktor 0,83 vermindert. Zum Zeitpunkt t 2 liegt die Anzahl der Foci pro Zelle bei $0,882 \pm 0,885$ (Mittelwert \pm Standardabweichung). Die Anzahl der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 ist gegenüber Zeitpunkt t 1 um 2205 % erhöht. Zum Zeitpunkt t 2 zeigt sich, wie in der Betrachtung der Mittelwerte der Foci pro Zelle des gesamten Patientenkollektivs zum Zeitpunkt t 2, die größte Anzahl der Mittelwerte der Foci pro Zelle. Im Vergleich zum Mittelwert des gesamten Patientenkollektivs ist der Wert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 um den Faktor 1,19 erhöht. Zum Zeitpunkt t 3 liegt der Wert bei $0,502 \pm 0,524$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) Foci pro Zelle und ist im Vergleich zu Zeitpunkt t 2 rückläufig. Die Anzahl der Foci pro Zelle ist um den Faktor 1,01 erhöht im Vergleich zu Zeitpunkt t 3 des gesamten Patientenkollektivs. Zum Zeitpunkt t 4 liegt der Wert bei $0,362 \pm 0,403$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) Foci pro Zelle und ist weiter rückläufig. Verglichen mit dem gesamten Patientenkollektiv ist der Wert der Foci pro Zelle um den Faktor 0,97 vermindert. Zum Zeitpunkt t 5 beträgt die Anzahl $0,091 \pm 0,128$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) Foci pro Zelle. Vierundzwanzig Stunden nach der Einwirkung der ionisierenden Strahlung ist der Wert der Foci pro Zelle gegenüber dem Wert unmittelbar vor der Einwirkung der ionisierenden Strahlung um 228 % erhöht. Gegenüber dem gesamten Patientenkollektiv ist die Anzahl der Foci pro Zelle um den Faktor 0,44 vermindert.

4.3.4 Altersgruppe 40 bis 49 Jahre

Tabelle 13 und Abbildung 13 zeigen die Mittelwerte der Foci pro Zelle zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5 in der Altersgruppe 40 bis 49 Jahre.

| | Foci Zeitpunkt t 1 | Foci Zeitpunkt t 2 | Foci Zeitpunkt t 3 | Foci Zeitpunkt t 4 | Foci Zeitpunkt t 5 |
|---|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Mittelwerte Altersgruppe 40-49 Jahre | 0,039 ± 0,014 | 1,928 ± 2,529 | 0,970 ± 1,398 | 0,696 ± 0,936 | 0,087 ± 0,067 |

Tabelle 13: Mittelwerte der y-H2AX-Foci der Altersgruppe 40-49 Jahre.

Gezeigt sind die Mittelwerte ± Standardabweichung der y-H2AX-Foci pro Zelle, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, der Patienten der Altersgruppe 40-49 Jahre zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5.

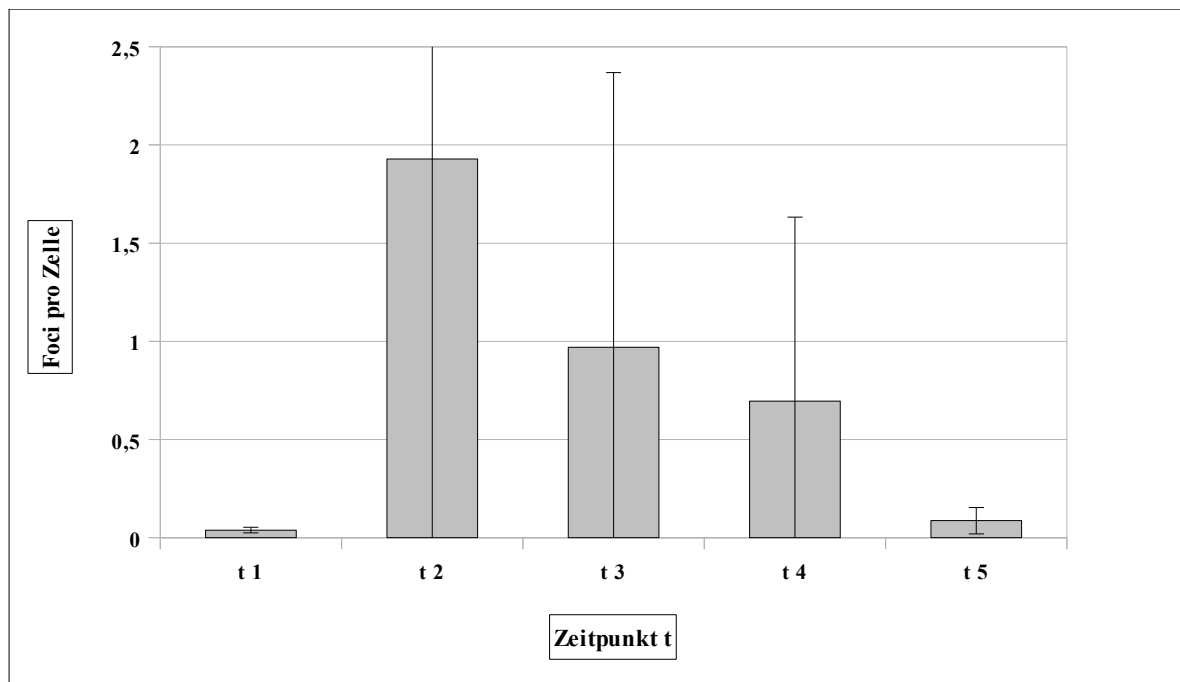


Abbildung 13: Mittelwerte der y-H2AX-Foci der Altersgruppe 40-49 Jahre.

Gezeigt sind die Mittelwerte ± Standardabweichung der y-H2AX-Foci pro Zelle, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, der Patienten der Altersgruppe 40-49 Jahre zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5.

In der Altersgruppe 40 bis 49 Jahre sind insgesamt 4 Patienten erfasst. Die Datenerhebung erfolgte zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5 entsprechend der Zeitpunkte der Datenerhebung bei allen Patienten der Studie. Tabelle 13 und Abbildung 13

zeigen die Mittelwerte der Foci pro Zelle zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5 der Patienten im Alter von 40 bis 49 Jahre. Der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 1 beträgt $0,039 \pm 0,014$ (Mittelwert \pm Standardabweichung). Verglichen mit dem Mittelwert der Foci pro Zelle des gesamten Patientenkollektivs zum Zeitpunkt t 1 ist die Anzahl der Foci pro Zelle um den Faktor 0,81 vermindert. Zum Zeitpunkt t 2 liegt die Anzahl der Foci pro Zelle bei $1,929 \pm 2,529$ (Mittelwert \pm Standardabweichung). Die Anzahl der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 ist gegenüber Zeitpunkt t 1 um 4946 % erhöht. Zum Zeitpunkt t 2 zeigt sich, wie in der Betrachtung der Mittelwerte der Foci pro Zelle des gesamten Patientenkollektivs zum Zeitpunkt t 2, die größte Anzahl der Mittelwerte der Foci pro Zelle. Im Vergleich zum Mittelwert des gesamten Patientenkollektivs ist der Wert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 um den Faktor 2,60 erhöht. Zum Zeitpunkt t 3 liegt der Wert bei $0,970 \pm 1,398$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) Foci pro Zelle und ist im Vergleich zu Zeitpunkt t 2 rückläufig. Die Anzahl der Foci pro Zelle ist um den Faktor 1,95 erhöht im Vergleich zu Zeitpunkt t 3 des gesamten Patientenkollektivs. Zum Zeitpunkt t 4 liegt der Wert bei $0,696 \pm 0,936$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) Foci pro Zelle und ist weiter rückläufig. Verglichen mit dem gesamten Patientenkollektiv ist der Wert der Foci pro Zelle um den Faktor 1,86 erhöht. Zum Zeitpunkt t 5 beträgt die Anzahl $0,087 \pm 0,067$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) Foci pro Zelle. 24 Stunden nach der Einwirkung der ionisierenden Strahlung ist der Wert der Foci pro Zelle gegenüber dem Wert unmittelbar vor der Einwirkung der ionisierenden Strahlung um 223 % erhöht. Gegenüber dem gesamten Patientenkollektiv ist die Anzahl der Foci pro Zelle um den Faktor 0,42 vermindert.

4.3.5 Altersgruppe 50 bis 59 Jahre

Tabelle 14 und Abbildung 14 zeigen die Mittelwerte der Foci pro Zelle zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5 in der Altersgruppe 50 bis 59 Jahre.

| | Foci Zeitpunkt t 1 | Foci Zeitpunkt t 2 | Foci Zeitpunkt t 3 | Foci Zeitpunkt t 4 | Foci Zeitpunkt t 5 |
|---|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Mittelwerte Altersgruppe 50-59 Jahre | 0,030 ± 0,020 | 0,396 ± 0,177 | 0,288 ± 0,114 | 0,203 ± 0,118 | 0,145 ± 0,098 |

Tabelle 14: Mittelwerte der y-H2AX-Foci der Altersgruppe 50-59 Jahre.

Gezeigt sind die Mittelwerte ± Standardabweichung der y-H2AX-Foci pro Zelle, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, der Patienten der Altersgruppe 50-59 Jahre zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5.

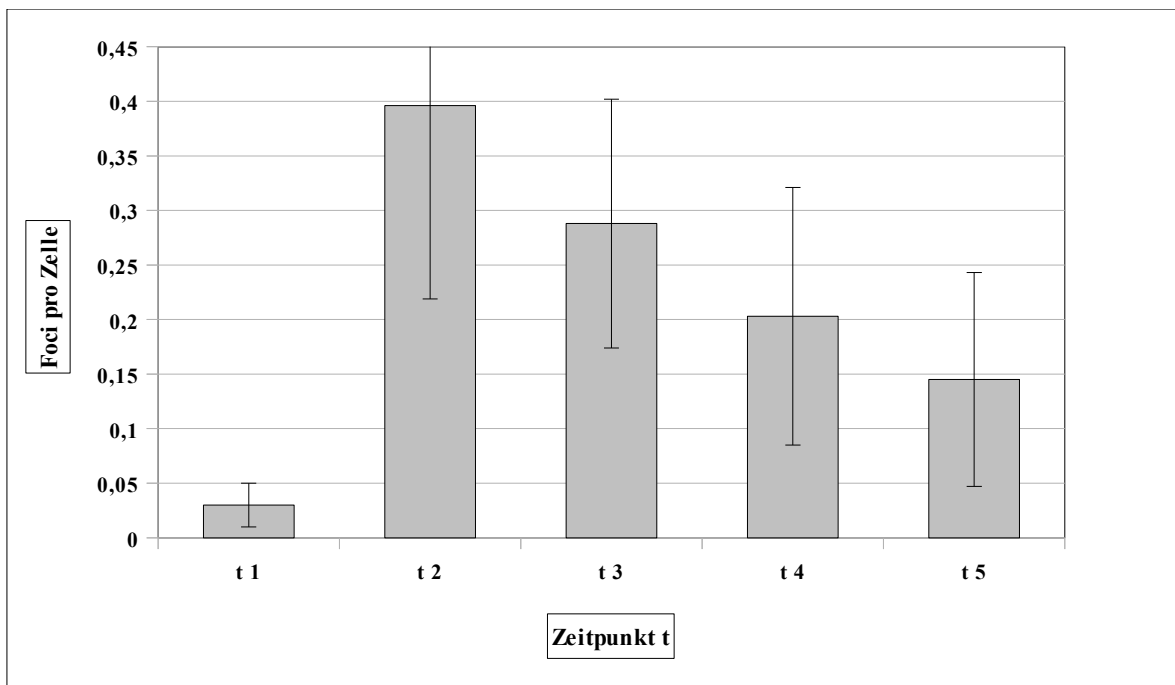


Abbildung 14: Mittelwert der y-H2AX-Foci der Altersgruppe 50-59 Jahre.

Gezeigt ist der Mittelwert ± Standardabweichung der y-H2AX-Foci pro Zelle, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, der Patienten der Altersgruppe 50-59 Jahre zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5.

In der Altersgruppe 50 bis 59 Jahre sind insgesamt 8 Patienten erfasst. Die Datenerhebung erfolgte zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5 entsprechend der Zeitpunkte

der Datenerhebung bei allen Patienten der Studie. Tabelle 14 und Abbildung 14 zeigen die Mittelwerte der Foci pro Zelle zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5, der Patienten im Alter von 50 bis 59 Jahren. Der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 1 beträgt $0,030 \pm 0,020$ (Mittelwert \pm Standardabweichung). Verglichen mit dem Mittelwert der Foci pro Zelle des gesamten Patientenkollektivs zum Zeitpunkt t 1, ist die Anzahl der Foci pro Zelle um den Faktor 0,63 vermindert. Zum Zeitpunkt t 2 liegt die Anzahl der Foci pro Zelle bei $0,396 \pm 0,177$ (Mittelwert \pm Standardabweichung). Die Anzahl der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 ist gegenüber Zeitpunkt t 1 um 1320 % erhöht. Zum Zeitpunkt t 2 zeigt sich, wie in der Betrachtung der Mittelwerte der Foci pro Zelle des gesamten Patientenkollektivs zum Zeitpunkt t 2, die größte Anzahl der Mittelwerte der Foci pro Zelle. Im Vergleich zum Mittelwert des gesamten Patientenkollektivs ist der Wert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 um den Faktor 0,53 vermindert. Zum Zeitpunkt t 3 liegt der Wert bei $0,288 \pm 0,114$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) Foci pro Zelle und ist im Vergleich zu Zeitpunkt t 2 rückläufig. Die Anzahl der Foci pro Zelle ist um den Faktor 0,58 vermindert im Vergleich zu Zeitpunkt t 3 des gesamten Patientenkollektivs. Zum Zeitpunkt t 4 liegt der Wert bei $0,203 \pm 0,118$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) Foci pro Zelle und ist weiter rückläufig. Verglichen mit dem gesamten Patientenkollektiv ist der Wert der Foci pro Zelle um den Faktor 0,54 vermindert. Zum Zeitpunkt t 5 beträgt die Anzahl $0,145 \pm 0,098$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) Foci pro Zelle. 24 Stunden nach der Einwirkung der ionisierenden Strahlung ist der Wert der Foci pro Zelle gegenüber dem Wert unmittelbar vor der Einwirkung der ionisierenden Strahlung um 483 % erhöht. Gegenüber dem gesamten Patientenkollektiv ist die Anzahl der Foci pro Zelle um den Faktor 0,71 vermindert.

4.3.6 Altersgruppe 60 bis 69 Jahre

Tabelle 15 und Abbildung 15 zeigen die Mittelwerte der Foci pro Zelle zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5 in der Altersgruppe 60 bis 69 Jahre.

| | Foci Zeitpunkt t 1 | Foci Zeitpunkt t 2 | Foci Zeitpunkt t 3 | Foci Zeitpunkt t 4 | Foci Zeitpunkt t 5 |
|---|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Mittelwerte Altersgruppe 60-69 Jahre | 0,043 ± 0,032 | 0,712 ± 0,256 | 0,527 ± 0,256 | 0,374 ± 0,198 | 0,209 ± 0,145 |

Tabelle 15: Mittelwerte der γ -H2AX-Foci der Altersgruppe 60-69 Jahre.

Gezeigt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung der γ -H2AX-Foci pro Zelle, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, der Patienten der Altersgruppe 60-69 Jahre zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5.

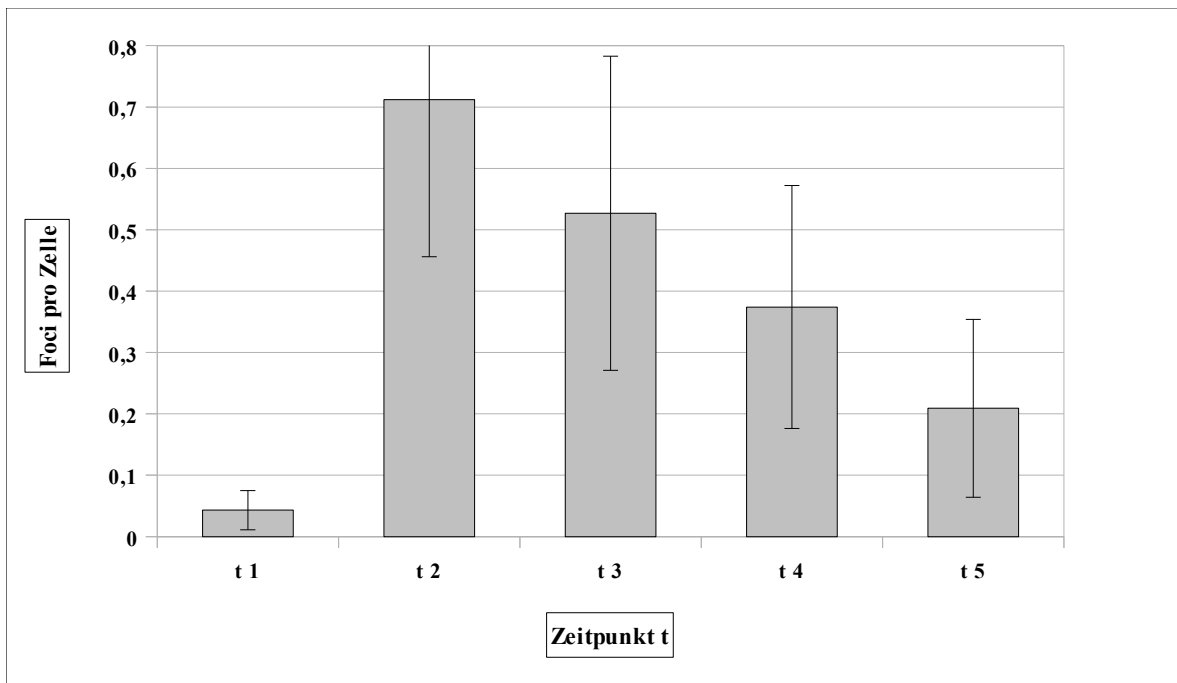


Abbildung 15: Mittelwerte der y-H2AX-Foci der Altersgruppe 60-69 Jahre.

Gezeigt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung der y-H2AX-Foci pro Zelle, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, der Patienten der Altersgruppe 60-69 Jahre zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5.

In der Altersgruppe 60 bis 69 Jahre sind insgesamt 12 Patienten erfasst. Die Datenerhebung erfolgte zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5 entsprechend der Zeitpunkte der Datenerhebung bei allen Patienten der Studie. Tabelle 15 und Abbildung 15 zeigen die Mittelwerte der Foci pro Zelle zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5 der Patienten im Alter von 60 bis 69 Jahren. Der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 1 beträgt $0,043 \pm 0,032$ (Mittelwert \pm Standardabweichung). Verglichen mit dem Mittelwert der Foci pro Zelle des gesamten Patientenkollektivs zum Zeitpunkt t 1, ist die Anzahl der Foci pro Zelle um den Faktor 0,90 vermindert. Zum Zeitpunkt t 2 liegt die Anzahl der Foci pro Zelle bei $0,712 \pm 0,256$ (Mittelwert \pm Standardabweichung). Die Anzahl der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 ist gegenüber Zeitpunkt t 1 um 1656 % erhöht. Zum Zeitpunkt t 2 zeigt sich, wie in der Betrachtung der Mittelwerte der Foci pro Zelle des gesamten

Patientenkollektivs zum Zeitpunkt t 2, die größte Anzahl der Mittelwerte der Foci pro Zelle. Im Vergleich zum Mittelwert des gesamten Patientenkollektivs ist der Wert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 um den Faktor 0,96 vermindert. Zum Zeitpunkt t 3 liegt der Wert bei $0,527 \pm 0,256$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) Foci pro Zelle und ist im Vergleich zu Zeitpunkt t 2 rückläufig. Die Anzahl der Foci pro Zelle ist um den Faktor 1,06 erhöht im Vergleich zu Zeitpunkt t 3 des gesamten Patientenkollektivs. Zeitpunkt t 4 liegt der Wert bei $0,374 \pm 0,198$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) Foci pro Zelle und ist weiter rückläufig. Die Anzahl der Foci pro Zelle ist identisch im Vergleich zu Zeitpunkt t 4 des gesamten Patientenkollektivs. Zum Zeitpunkt t 5 beträgt die Anzahl $0,209 \pm 0,145$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) Foci pro Zelle. 24 Stunden nach der Einwirkung der ionisierenden Strahlung ist der Wert der Foci pro Zelle gegenüber dem Wert unmittelbar vor der Einwirkung der ionisierenden Strahlung um 486 % erhöht. Gegenüber dem gesamten Patientenkollektiv ist die Anzahl der Foci pro Zelle um den Faktor 1,02 erhöht.

4.3.7 Altersgruppe 70 bis 79 Jahre

Tabelle 16 und Abbildung 16 zeigen die Mittelwerte der Foci pro Zelle zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5 in der Altersgruppe 70 bis 79 Jahre.

| | Foci Zeitpunkt t 1 | Foci Zeitpunkt t 2 | Foci Zeitpunkt t 3 | Foci Zeitpunkt t 4 | Foci Zeitpunkt t 5 |
|---|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Mittelwerte Altersgruppe 70-79 Jahre | 0,075 ± 0,055 | 0,614 ± 0,763 | 0,447 ± 0,654 | 0,396 ± 0,555 | 0,276 ± 0,440 |

Tabelle 16: Mittelwerte der y-H2AX-Foci der Altersgruppe 70-79 Jahre.

Gezeigt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung der y-H2AX-Foci pro Zelle normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, der Patienten der Altersgruppe 70-79 Jahre zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5.

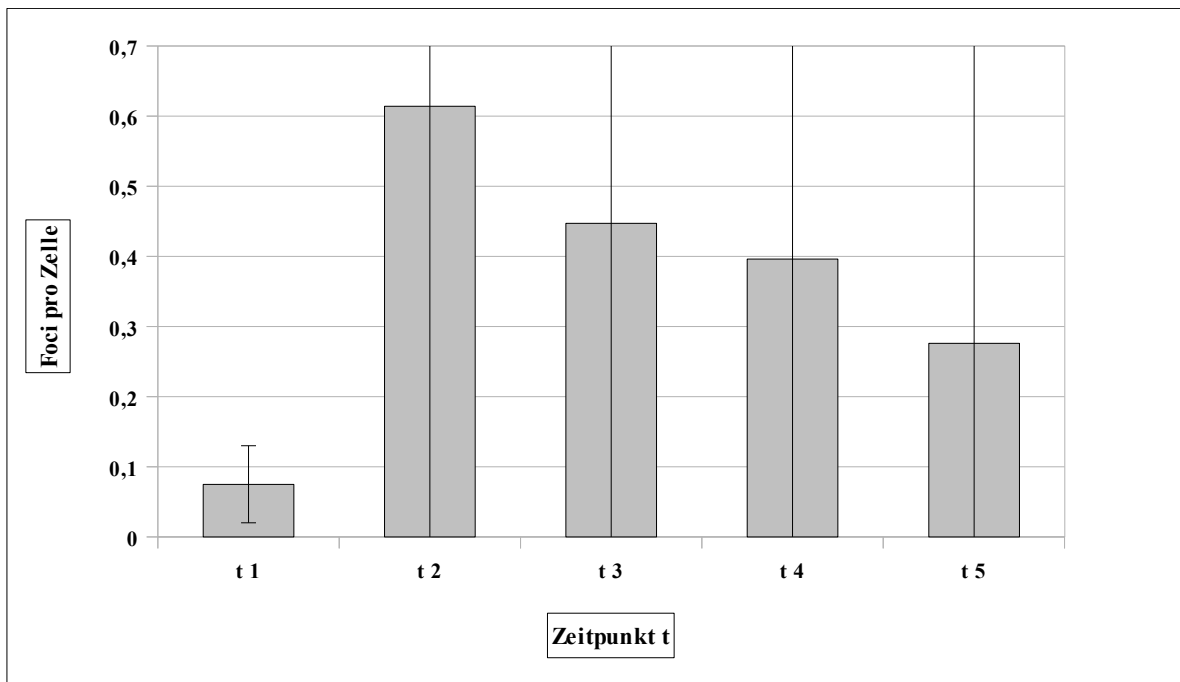


Abbildung 16: Mittelwerte der y-H2AX-Foci der Altersgruppe 70-79 Jahre.

Gezeigt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung der y-H2AX-Foci pro Zelle, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, der Patienten der Altersgruppe 70-79 Jahre zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5.

In der Altersgruppe 70 bis 79 Jahre sind insgesamt 8 Patienten erfasst. Die Datenerhebung erfolgte zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5 entsprechend der Zeitpunkte der Datenerhebung bei allen Patienten der Studie. Tabelle 16 und Abbildung 16

zeigen die Mittelwerte der Foci pro Zelle zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5 der Patienten im Alter von 70 bis 79 Jahren. Der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 1 beträgt $0,075 \pm 0,055$ (Mittelwert \pm Standardabweichung). Verglichen mit dem Mittelwert der Foci pro Zelle des gesamten Patientenkollektivs zum Zeitpunkt t 1 ist die Anzahl der Foci pro Zelle um den Faktor 1,56 erhöht. Zum Zeitpunkt t 2 liegt die Anzahl der Foci pro Zelle bei $0,614 \pm 0,763$ (Mittelwert \pm Standardabweichung). Die Anzahl der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 ist gegenüber Zeitpunkt t 1 um 819 % erhöht. Zum Zeitpunkt t 2 zeigt sich, wie in der Betrachtung der Mittelwerte der Foci pro Zelle des gesamten Patientenkollektivs zum Zeitpunkt t 2, die größte Anzahl der Mittelwerte der Foci pro Zelle. Im Vergleich zum Mittelwert des gesamten Patientenkollektivs ist der Wert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 um den Faktor 0,83 vermindert. Zum Zeitpunkt t 3 liegt der Wert bei $0,447 \pm 0,654$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) Foci pro Zelle und ist im Vergleich zu Zeitpunkt t 2 rückläufig. Die Anzahl der Foci pro Zelle ist um den Faktor 0,90 vermindert im Vergleich zu Zeitpunkt t 3 des gesamten Patientenkollektivs. Zum Zeitpunkt t 4 liegt der Wert bei $0,396 \pm 0,555$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) Foci pro Zelle und ist weiter rückläufig. Verglichen mit dem gesamten Patientenkollektiv ist der Wert der Foci pro Zelle um den Faktor 1,06 erhöht. Zum Zeitpunkt t 5 beträgt die Anzahl $0,276 \pm 0,440$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) Foci pro Zelle. 24 Stunden nach der Einwirkung der ionisierenden Strahlung ist der Wert der Foci pro Zelle gegenüber dem Wert unmittelbar vor der Einwirkung der ionisierenden Strahlung um 368 % erhöht. Gegenüber dem gesamten Patientenkollektiv ist die Anzahl der Foci pro Zelle um den Faktor 1,35 erhöht.

4.3.8 Altersgruppe 80 bis 89 Jahre

Tabelle 17 und Abbildung 17 zeigen die Mittelwerte der Foci pro Zelle zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5 in der Altersgruppe 80 bis 89 Jahre.

| | Foci Zeitpunkt t 1 | Foci Zeitpunkt t 2 | Foci Zeitpunkt t 3 | Foci Zeitpunkt t 4 | Foci Zeitpunkt t 5 |
|---|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Mittelwerte Altersgruppe 80-89 Jahre | 0,077 ± 0,055 | 0,605 ± 0,296 | 0,411 ± 0,173 | 0,302 ± 0,161 | 0,234 ± 0,154 |

Tabelle 17: Mittelwerte der γ -H2AX-Foci der Altersgruppe 80-89 Jahre.

Gezeigt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung der γ -H2AX-Foci pro Zelle, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, der Patienten der Altersgruppe 80-89 Jahre zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5.

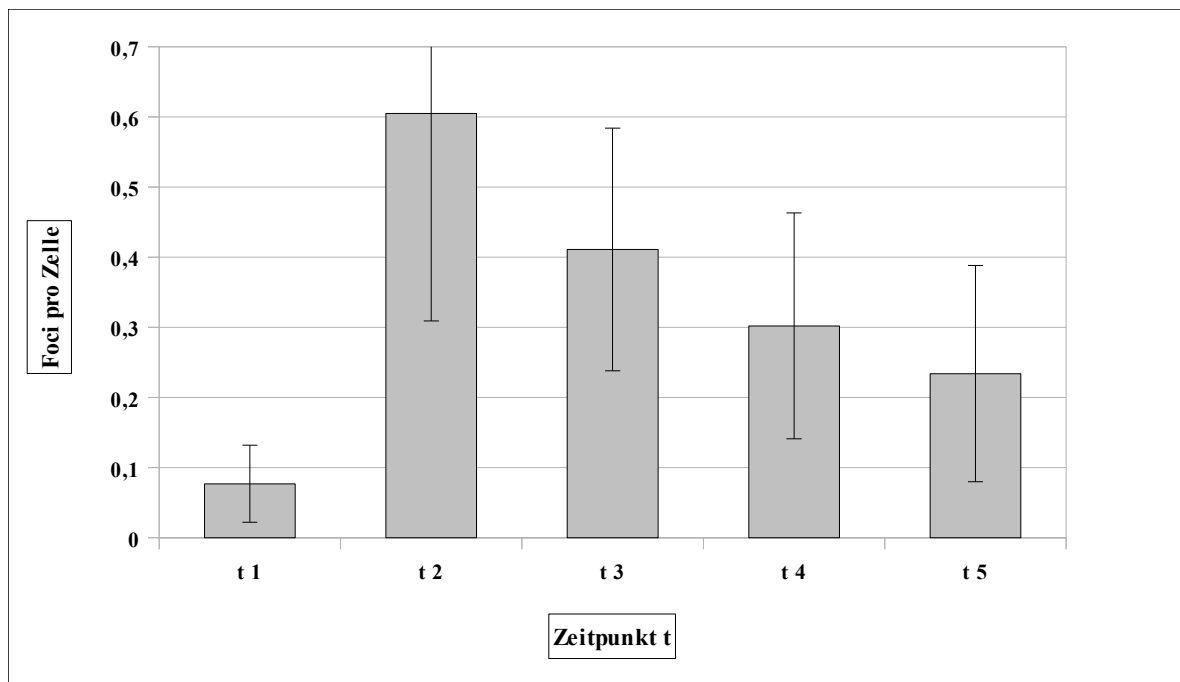


Abbildung 17: Mittelwerte der γ -H2AX-Foci der Altersgruppe 80-89 Jahre.

Gezeigt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung der γ -H2AX-Foci pro Zelle, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, der Patienten der Altersgruppe 80-89 Jahre zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5.

In der Altersgruppe 80 bis 89 Jahre sind die ältesten Patienten der Studie gezeigt. In der Altersgruppe sind insgesamt 4 Patienten erfasst. Die Datenerhebung erfolgte zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5 entsprechend der Zeitpunkte der

Datenerhebung bei allen Patienten der Studie. Tabelle 17 und Abbildung 17 zeigen die Mittelwerte der Foci pro Zelle zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5 der Patienten im Alter von 80 bis 89 Jahren. Der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 1 beträgt $0,077 \pm 0,055$ (Mittelwert \pm Standardabweichung). Verglichen mit dem Mittelwert der Foci pro Zelle des gesamten Patientenkollektivs zum Zeitpunkt t 1 ist die Anzahl der Foci pro Zelle um den Faktor 1,60 erhöht. Zum Zeitpunkt t 2 liegt die Anzahl der Foci pro Zelle bei $0,605 \pm 0,296$ (Mittelwert \pm Standardabweichung). Die Anzahl der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 ist gegenüber Zeitpunkt t 1 um 786 % erhöht. Zum Zeitpunkt t 2 zeigt sich, wie in der Betrachtung der Mittelwerte der Foci pro Zelle des gesamten Patientenkollektivs zum Zeitpunkt t 2, die größte Anzahl der Mittelwerte der Foci pro Zelle. Im Vergleich zum Mittelwert des gesamten Patientenkollektivs ist der Wert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 um den Faktor 0,81 vermindert. Zum Zeitpunkt t 3 liegt der Wert bei $0,411 \pm 0,173$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) Foci pro Zelle und ist im Vergleich zu Zeitpunkt t 2 rückläufig. Die Anzahl der Foci pro Zelle ist um den Faktor 0,83 vermindert im Vergleich zu Zeitpunkt t 3 des gesamten Patientenkollektivs. Zum Zeitpunkt t 4 liegt der Wert bei $0,302 \pm 0,161$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) Foci pro Zelle und ist weiter rückläufig. Verglichen mit dem gesamten Patientenkollektiv ist der Wert der Foci pro Zelle um den Faktor 0,81 vermindert. Zum Zeitpunkt t 5 beträgt die Anzahl $0,234 \pm 0,154$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) Foci pro Zelle. 24 Stunden nach der Einwirkung der ionisierenden Strahlung ist der Wert der Foci pro Zelle gegenüber dem Wert unmittelbar vor der Einwirkung der ionisierenden Strahlung um 304 % erhöht. Gegenüber dem gesamten Patientenkollektiv ist die Anzahl der Foci pro Zelle um den Faktor 1,14 erhöht.

4.4 Abweichung der y-H2AX-Foci der Patienten pro Altersgruppe, zu den Zeitpunkten t 2 bis t 5, vom Mittelwert der Patienten pro Altersgruppe zum Zeitpunkt t 1, in Prozent

Tabelle 18 und Abbildung 18 zeigen die Abweichung der Mittelwerte der y-H2AX-Foci pro Zelle für jede Altersgruppe zu den Zeitpunkten t 2 bis t 5 vom Mittelwert der y-H2AX-Foci pro Zelle der Patienten pro Altersgruppe, im Vergleich zum Zeitpunkt t 1 in Prozent.

| Mittelwerte Altersgruppe | Foci Zeitpunkt t 2 | Foci Zeitpunkt t 3 | Foci Zeitpunkt t 4 | Foci Zeitpunkt t 5 |
|---------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 20 - 29 Jahre | 1756% | 1553% | 1259% | 1135% |
| 30 - 39 Jahre | 2205% | 1255% | 905% | 228% |
| 40 - 49 Jahre | 4946% | 2487% | 1785% | 223% |
| 50 - 59 Jahre | 1320% | 960% | 677% | 483% |
| 60 - 69 Jahre | 1656% | 1226% | 870% | 486% |
| 70 - 79 Jahre | 819% | 596% | 528% | 368% |
| 80 - 89 Jahre | 786% | 534% | 392% | 304% |

Tabelle 18: Abweichung der y-H2AX-Foci der Patienten pro Altersgruppe vom Mittelwert der Patienten pro Altersgruppe zum Zeitpunkt t 1 in Prozent.

Gezeigt ist jeweils die Abweichung des Mittelwertes der y-H2AX-Foci pro Zelle, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, der Patienten pro Altersgruppe zu den Zeitpunkten t 2 bis t 5 vom Mittelwert der Patienten pro Altersgruppe im Vergleich zum Zeitpunkt t 1 in Prozent.

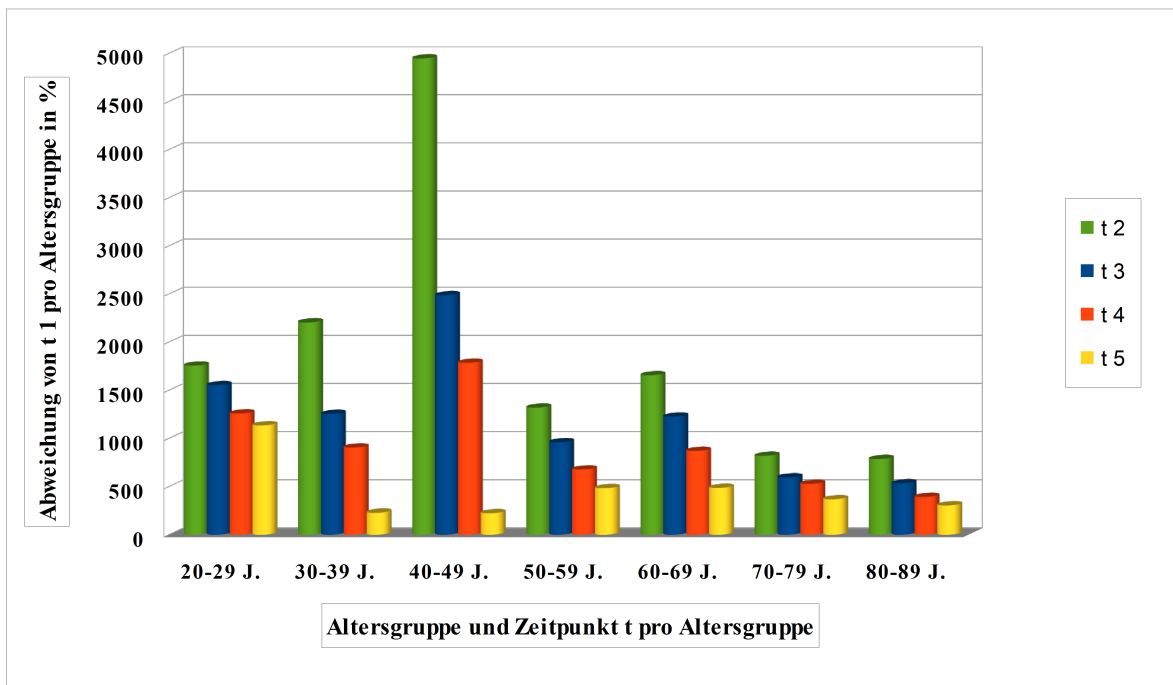


Abbildung 18: Abweichung der y-H2AX-Foci der Patienten pro Altersgruppe vom Mittelwert der Patienten pro Altersgruppe im Vergleich zum Zeitpunkt t 1, in Prozent.

Gezeigt ist jeweils die Abweichung des Mittelwertes der y-H2AX-Foci pro Zelle, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, der Patienten pro Altersgruppe zu den Zeitpunkten t 2 bis t 5 vom Mittelwert der Patienten pro Altersgruppe im Vergleich zum Zeitpunkt t 1, in Prozent.

In der Altersgruppe 20 bis 29 Jahre steigt der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 im Vergleich zum Mittelwert zum Zeitpunkt t 1 um 1756 % an. Zum Zeitpunkt t 3 fällt der Wert ab, auf 1553 % von t 1. Zum Zeitpunkt t 4 fällt der Wert weiter ab, auf 1259 %. Zum Zeitpunkt t 5 fällt der Wert erneut weiter ab, auf 1135 % von t 1. In der Altersgruppe 30 bis 39 Jahre steigt der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 im Vergleich zum Mittelwert zum Zeitpunkt t 1 um 2205 % an. Zum Zeitpunkt t 3 fällt der Wert ab, auf 1255 % von t 1. Zum Zeitpunkt t 4 fällt der Wert weiter ab, auf 905 %. Zum Zeitpunkt t 5 fällt der Wert erneut weiter ab, auf 228 % von t 1. In der Altersgruppe 40 bis 49 Jahre steigt der Mittelwert der Foci

pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 im Vergleich zum Mittelwert zum Zeitpunkt t 1 um 4946 % an. Zum Zeitpunkt t 3 fällt der Wert ab, auf 2487 % von t 1. Zum Zeitpunkt t 4 fällt der Wert weiter ab, auf 1785 %. Zum Zeitpunkt t 5 fällt der Wert erneut weiter ab, auf 223 % von t 1. In der Altersgruppe 50 bis 59 Jahre steigt der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 im Vergleich zum Mittelwert zum Zeitpunkt t 1 um 1320 % an. Zum Zeitpunkt t 3 fällt der Wert ab, auf 960 % von t 1. Zum Zeitpunkt t 4 fällt der Wert weiter ab, auf 677 %. Zum Zeitpunkt t 5 fällt der Wert erneut weiter ab, auf 483 % von t 1. In der Altersgruppe 60 bis 69 Jahre steigt der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 im Vergleich zum Mittelwert zum Zeitpunkt t 1 um 1656 % an. Zum Zeitpunkt t 3 fällt der Wert ab, auf 1226 % von t 1. Zum Zeitpunkt t 4 fällt der Wert weiter ab, auf 870 %. Zum Zeitpunkt t 5 fällt der Wert erneut weiter ab, auf 486 % von t 1. In der Altersgruppe 70 bis 79 Jahre steigt der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 im Vergleich zum Mittelwert zum Zeitpunkt t 1 um 819 % an. Zum Zeitpunkt t 3 fällt der Wert ab, auf 596 % von t 1. Zum Zeitpunkt t 4 fällt der Wert weiter ab, auf 528 %. Zum Zeitpunkt t 5 fällt der Wert erneut weiter ab, auf 368 % von t 1. In der Altersgruppe 80 bis 89 Jahre steigt der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 im Vergleich zum Mittelwert zum Zeitpunkt t 1 um 786 % an. Zum Zeitpunkt t 3 fällt der Wert ab, auf 534 % von t 1. Zum Zeitpunkt t 4 fällt der Wert weiter ab, auf 392 %. Zum Zeitpunkt t 5 fällt der Wert erneut weiter ab, auf 304 % von t 1.

4.5 Abweichung der γ -H2AX-Foci der Patienten pro Altersgruppe, zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5, von den Mittelwerten aller Patienten zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5, in Prozent

Tabelle 19 und Abbildung 19 zeigen die Abweichung der Mittelwerte der γ -H2AX-Foci pro Zelle für jede Altersgruppe zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5 im Vergleich zu

den Mittelwerten der Foci pro Zelle aller Patienten zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5 in Prozent.

| Mittelwerte Altersgruppe | Foci Zeitpunkt t 1 | Foci Zeitpunkt t 2 | Foci Zeitpunkt t 3 | Foci Zeitpunkt t 4 | Foci Zeitpunkt t 5 |
|-------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 20 bis 29 Jahre | -29% | -20% | +6% | +14% | +88% |
| 30 bis 39 Jahre | -17% | +19% | +1% | -3% | -56% |
| 40 bis 49 Jahre | -19% | +160% | +95% | +86% | -58% |
| 50 bis 59 Jahre | -37% | -47% | -42% | -46% | -29% |
| 60 bis 69 Jahre | -10% | -4% | +6% | 0% | +2% |
| 70 bis 79 Jahre | +56% | -17% | -10% | +6% | +35% |
| 80 bis 89 Jahre | +60% | -19% | -17% | -19% | +14% |

Tabelle 19: Abweichung der y-H2AX-Foci der Patienten pro Altersgruppe, von den Mittelwerten aller Patienten, in Prozent.

Gezeigt ist jeweils die Abweichung des Mittelwertes der y-H2AX-Foci pro Zelle, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, der Patienten pro Altersgruppe zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5 im Vergleich zu den Mittelwerten aller Patienten, in Prozent.

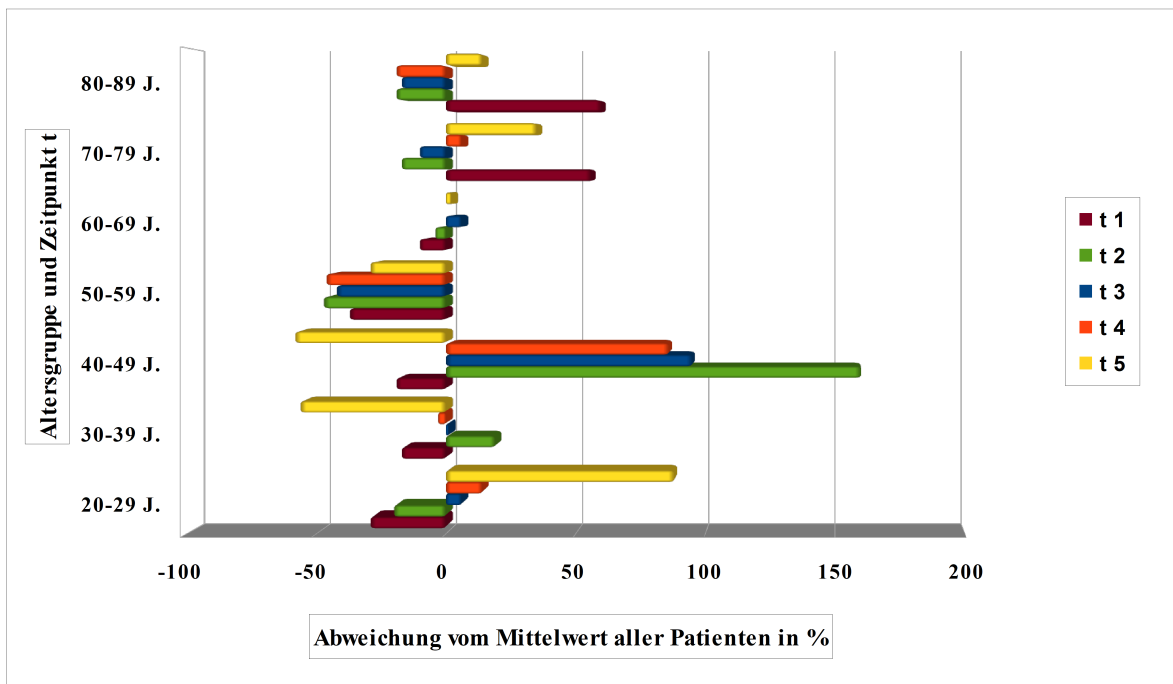


Abbildung 19: Abweichung der y-H2AX-Foci der Patienten pro Altersgruppe, im Vergleich zu den Mittelwerten aller Patienten, in Prozent.

Gezeigt ist jeweils die Abweichung des Mittelwertes der y-H2AX-Foci pro Zelle, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, der Patienten pro Altersgruppe zu den Zeitpunkten t 1 bis t 5 im Vergleich zu den Mittelwerten aller Patienten in Prozent.

In der Altersgruppe 20 bis 29 Jahre liegen die Mittelwerte der Foci pro Zelle zu den Zeitpunkten t 1 und t 2 unterhalb der Mittelwerte der Foci pro Zelle aller Patienten. Zu den Zeitpunkten t 3, t 4 und t 5 liegen die Mittelwerte der Foci pro Zelle oberhalb der Mittelwerte der Foci pro Zelle aller Patienten. In der Altersgruppe 30 bis 39 Jahre liegen die Mittelwerte der Foci pro Zelle zu den Zeitpunkten t 1, t 4 und t 5 unterhalb der Mittelwerte der Foci pro Zelle aller Patienten. Zu den Zeitpunkten t 2 und t 3 liegen die Mittelwerte der Foci pro Zelle oberhalb des Mittelwertes der Foci pro Zelle aller Patienten. In der Altersgruppe 40 bis 49 Jahre liegen die Mittelwerte der Foci pro Zelle zu den Zeitpunkten t 1 und t 5 unterhalb der Mittelwerte der Foci pro Zelle aller Patienten. Zu den Zeitpunkten t 2, t 3 und t 4 liegen die Mittelwerte der Foci pro Zelle oberhalb der Mittelwerte der Foci pro

Zelle aller Patienten. In der Altersgruppe 50 bis 59 Jahre liegen die Mittelwerte der Foci pro Zelle zu allen Zeitpunkten, t 1, t 2, t 3, t 4 und t 5, unterhalb der Mittelwerte der Foci pro Zelle aller Patienten. In der Altersgruppe 60 bis 69 Jahre liegen die Mittelwerte der Foci pro Zelle zu den Zeitpunkten t 1 und t 2 unterhalb der Mittelwerte der Foci pro Zelle aller Patienten. Zu den Zeitpunkten t 3 und t 5 liegen die Mittelwerte der Foci pro Zelle oberhalb der Mittelwerte der Foci pro Zelle aller Patienten und zum Zeitpunkt t 4 liegen die Mittelwerte der Foci pro Zelle exakt im Bereich der Mittelwerte der Foci pro Zelle aller Patienten. Zum Zeitpunkt t 5 liegen die Mittelwerte der Foci pro Zelle oberhalb der Mittelwerte der Foci pro Zelle aller Patienten. In der Altersgruppe 70 bis 79 Jahre liegen die Mittelwerte der Foci pro Zelle zu den Zeitpunkten t 1, t 4 und t 5 oberhalb der Mittelwerte der Foci pro Zelle aller Patienten. Zu den Zeitpunkten t 2 und t 3 liegen die Mittelwerte der Foci pro Zelle unterhalb der Mittelwerte der Foci pro Zelle aller Patienten. In der Altersgruppe 80 bis 89 Jahre liegen die Mittelwerte der Foci pro Zelle zu den Zeitpunkten t 1 und t 5 oberhalb der Mittelwerte der Foci pro Zelle aller Patienten. Zu den Zeitpunkten t 2, t 3 und t 4 liegen die Mittelwerte der Foci pro Zelle unterhalb der Mittelwerte der Foci pro Zelle aller Patienten.

4.6 Abweichung der γ -H2AX-Foci der Patienten pro Altersgruppe zum Zeitpunkt t 1 vom Mittelwert aller Patienten zum Zeitpunkt t 1 in Prozent

Tabelle 20 und Abbildung 20 zeigen die Abweichung der Mittelwerte der γ -H2AX-Foci pro Zelle für jede Altersgruppe zum Zeitpunkt t 1 im Vergleich zum Mittelwert der Foci pro Zelle aller Patienten zum Zeitpunkt t 1 in Prozent.

| Mittelwerte Altersgruppe | Foci Zeitpunkt t 1 zu Mittelwert t 1 aller Patienten |
|-------------------------------------|---|
| 20 - 29 Jahre | -29% |
| 30 - 39 Jahre | -17% |
| 40 - 49 Jahre | -19% |
| 50 - 59 Jahre | -37% |
| 60 - 69 Jahre | -10% |
| 70 - 79 Jahre | +56% |
| 80 - 89 Jahre | +60% |

Tabelle 20: Abweichung der y-H2AX-Foci der Patienten pro Altersgruppe zum Zeitpunkt t 1 vom Mittelwert aller Patienten zum Zeitpunkt t 1 in Prozent.

Gezeigt ist jeweils die Abweichung des Mittelwertes der y-H2AX-Foci pro Zelle, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, der Patienten pro Altersgruppe zum Zeitpunkt t 1 im Vergleich zum Mittelwert aller Patienten zum Zeitpunkt t 1, in Prozent.

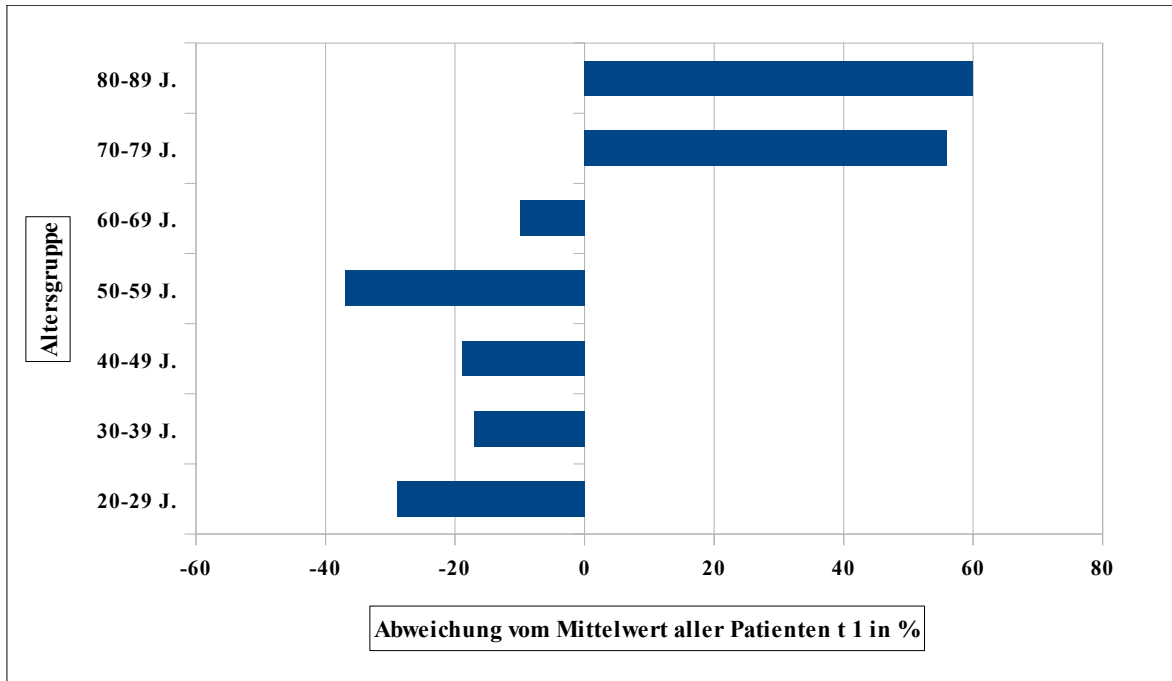


Abbildung 20: Abweichung der y-H2AX-Foci der Patienten pro Altersgruppe zum Zeitpunkt t 1 vom Mittelwert aller Patienten, zum Zeitpunkt t 1 in Prozent.

Gezeigt ist jeweils die Abweichung des Mittelwertes der y-H2AX-Foci pro Zelle, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, der Patienten pro Altersgruppe zum Zeitpunkt t 1 im Vergleich zum Mittelwert aller Patienten zum Zeitpunkt t 1, in Prozent.

In der Altersgruppe 20 bis 29 Jahre liegt der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 1 29 % unterhalb des Mittelwertes der Foci pro Zelle aller Patienten zum Zeitpunkt t 1. In der Altersgruppe 30 bis 39 Jahre liegt der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 1 17 % unterhalb des Mittelwertes der Foci pro Zelle aller Patienten zum Zeitpunkt t 1. In der Altersgruppe 40 bis 49 Jahre liegt der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 1 19 % unterhalb des Mittelwertes der Anzahl der Foci pro Zelle aller Patienten zum Zeitpunkt t 1. In der Altersgruppe 50 bis 59 Jahre liegt der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 1 37 % unterhalb des Mittelwertes der Anzahl der Foci pro Zelle aller Patienten zum Zeitpunkt t 1. In der Altersgruppe 60 bis 69 Jahre liegt der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt

t 1 10 % unterhalb des Mittelwertes der Anzahl der Foci pro Zelle aller Patienten zum Zeitpunkt t 1. In der Altersgruppe 70 bis 79 Jahre liegt der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 1 56 % oberhalb des Mittelwertes der Anzahl der Foci pro Zelle aller Patienten zum Zeitpunkt t 1. In der Altersgruppe 80 bis 89 Jahre liegt der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 1 60 % oberhalb des Mittelwertes der Anzahl der Foci pro Zelle aller Patienten zum Zeitpunkt t 1.

4.7 Abweichung der γ -H2AX-Foci der Patienten pro Altersgruppe zum Zeitpunkt t 2 vom Mittelwert aller Patienten zum Zeitpunkt t 2 in Prozent

Tabelle 21 und Abbildung 21 zeigen die Abweichung der Mittelwerte der γ -H2AX-Foci pro Zelle für jede Altersgruppe zum Zeitpunkt t 2 im Vergleich zum Mittelwert der Foci pro Zelle aller Patienten zum Zeitpunkt t 2 in Prozent.

| Mittelwerte Altersgruppe | Foci Zeitpunkt t 2 zu Mittelwert t 2 aller Patienten |
|-------------------------------------|---|
| 20 bis 29 Jahre | -20% |
| 30 bis 39 Jahre | +19% |
| 40 bis 49 Jahre | +160% |
| 50 bis 59 Jahre | -47% |
| 60 bis 69 Jahre | -4% |
| 70 bis 79 Jahre | -17% |
| 80 bis 89 Jahre | -19% |

Tabelle 21: Abweichung der y-H2AX-Foci der Patienten pro Altersgruppe zum Zeitpunkt t 2 vom Mittelwert aller Patienten zum Zeitpunkt t 2 in Prozent.

Gezeigt ist jeweils die Abweichung des Mittelwertes der y-H2AX-Foci pro Zelle, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, der Patienten pro Altersgruppe im Vergleich zum Zeitpunkt t 2 vom Mittelwert aller Patienten zum Zeitpunkt t 2 in Prozent.

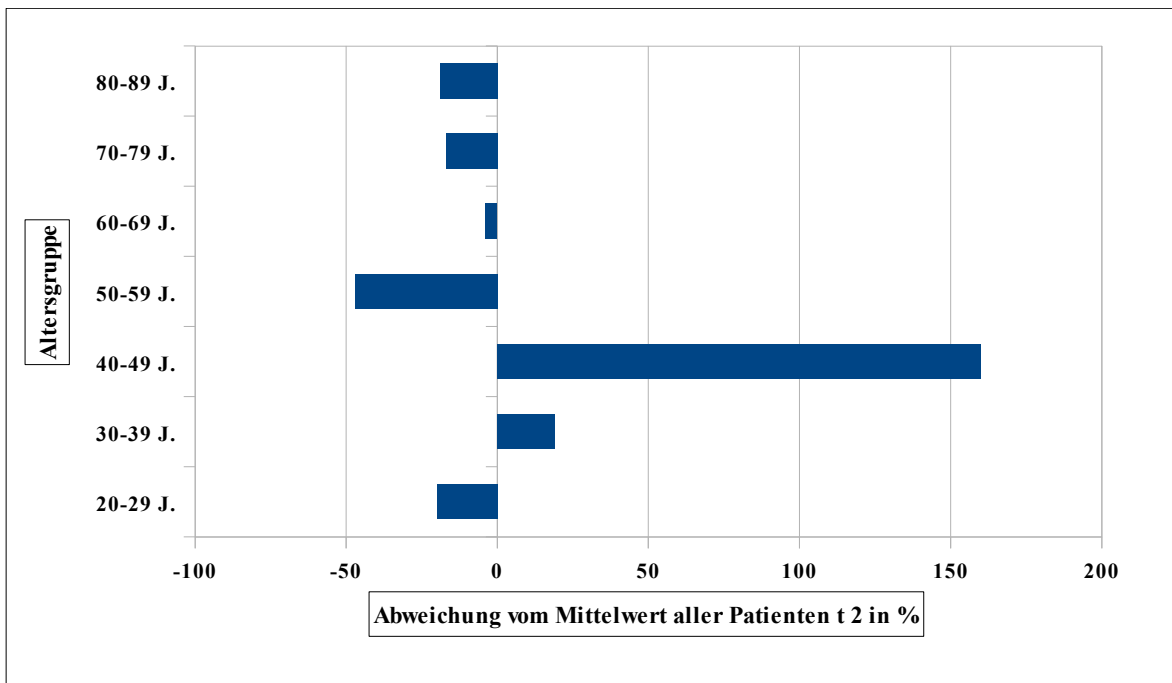


Abbildung 21: Abweichung der y-H2AX-Foci der Patienten pro Altersgruppe zum Zeitpunkt t 2 vom Mittelwert aller Patienten zum Zeitpunkt t 2 in Prozent.

Gezeigt ist jeweils die Abweichung des Mittelwertes der y-H2AX-Foci pro Zelle, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, der Patienten pro Altersgruppe zum Zeitpunkt t 2 im Vergleich zum Mittelwert aller Patienten zum Zeitpunkt t 2, in Prozent.

In der Altersgruppe 20 bis 29 Jahre liegt der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 20 % unterhalb des Mittelwertes der Foci pro Zelle aller Patienten zum Zeitpunkt t 2. In der Altersgruppe 30 bis 39 Jahre liegt der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 19 % oberhalb des Mittelwertes der Foci pro Zelle aller Patienten zum Zeitpunkt t 2. In der Altersgruppe 40 bis 49 Jahre liegt der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 160 % oberhalb des Mittelwertes der Anzahl der Foci pro Zelle aller Patienten zum Zeitpunkt t 2. In der Altersgruppe 50 bis 59 Jahre liegt der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 47 % unterhalb des Mittelwertes der Anzahl der Foci pro Zelle aller Patienten zum Zeitpunkt t 2. In der Altersgruppe 60 bis 69 Jahre liegt der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt

t 2 4 % unterhalb des Mittelwertes der Anzahl der Foci pro Zelle aller Patienten zum Zeitpunkt t 2. In der Altersgruppe 70 bis 79 Jahre liegt der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 17 % unterhalb des Mittelwertes der Anzahl der Foci pro Zelle aller Patienten zum Zeitpunkt t 2. In der Altersgruppe 80 bis 89 Jahre liegt der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 19 % unterhalb des Mittelwertes der Anzahl der Foci pro Zelle aller Patienten zum Zeitpunkt t 2.

4.8 Abweichung der γ -H2AX-Foci der Patienten pro Altersgruppe zum Zeitpunkt t 5 vom Mittelwert aller Patienten zum Zeitpunkt t 5 in Prozent

Tabelle 22 und Abbildung 22 zeigen die Abweichung der Mittelwerte der γ -H2AX-Foci pro Zelle für jede Altersgruppe zum Zeitpunkt t 5 im Vergleich zum Mittelwert der Foci pro Zelle aller Patienten, zum Zeitpunkt t 5, in Prozent.

| Mittelwerte Altersgruppe | Foci Zeitpunkt t 5 zu Mittelwert t 5 aller Patienten |
|-------------------------------------|---|
| 20 - 29 Jahre | +88% |
| 30 - 39 Jahre | -56% |
| 40 - 49 Jahre | -58% |
| 50 - 59 Jahre | -29% |
| 60 - 69 Jahre | +2% |
| 70 - 79 Jahre | +35% |
| 80 - 89 Jahre | +14% |

Tabelle 22: Abweichung der y-H2AX-Foci der Patienten pro Altersgruppe zum Zeitpunkt t 5 vom Mittelwert aller Patienten zum Zeitpunkt t 5 in Prozent.

Gezeigt ist jeweils die Abweichung des Mittelwertes der y-H2AX-Foci pro Zelle, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, der Patienten pro Altersgruppe zum Zeitpunkt t 5 im Vergleich zum Mittelwert aller Patienten zum Zeitpunkt t 5, in Prozent.

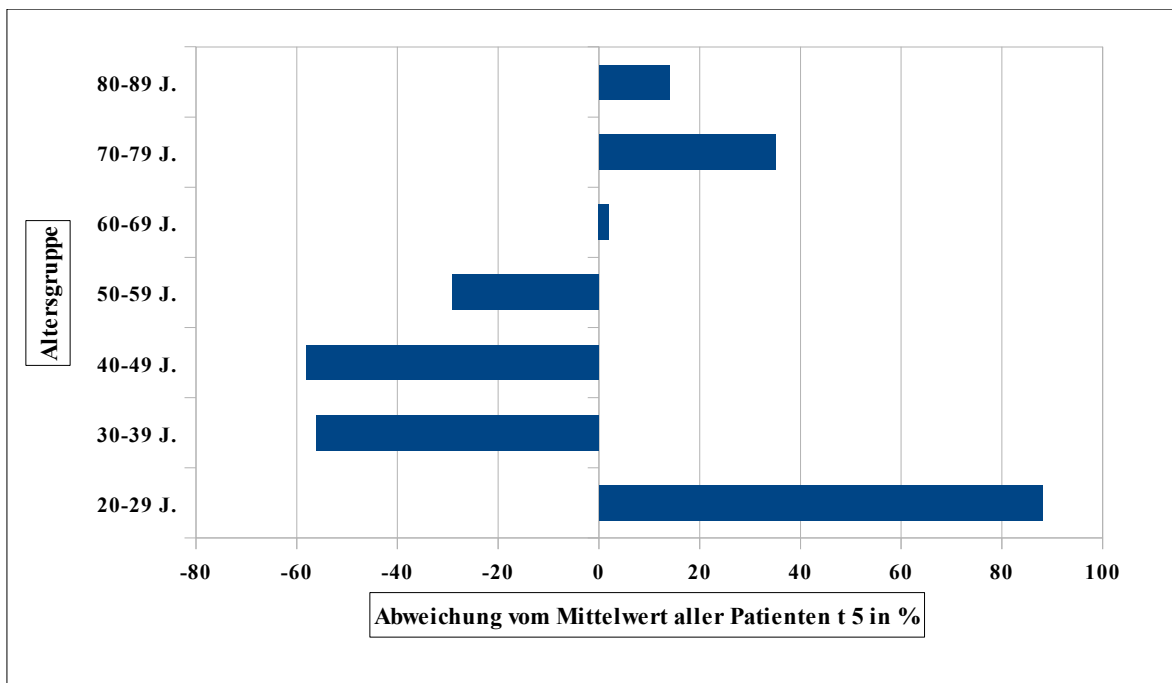


Abbildung 22: Abweichung der y-H2AX-Foci der Patienten pro Altersgruppe zum Zeitpunkt t 5 vom Mittelwert aller Patienten zum Zeitpunkt t 5 in Prozent.

Gezeigt ist jeweils die Abweichung des Mittelwertes der y-H2AX-Foci pro Zelle, normiert auf ein DLP von 1000 mGy * cm, der Patienten pro Altersgruppe zum Zeitpunkt t 5 im Vergleich zum Mittelwert aller Patienten zum Zeitpunkt t 5, in Prozent.

In der Altersgruppe 20 bis 29 Jahre liegt der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 5 88 % oberhalb des Mittelwertes der Foci pro Zelle aller Patienten zum Zeitpunkt t 5. In der Altersgruppe 30 bis 39 Jahre liegt der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 5 56 % unterhalb des Mittelwertes der Foci pro Zelle aller Patienten zum Zeitpunkt t 5. In der Altersgruppe 40 bis 49 Jahre liegt der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 5 58 % unterhalb des Mittelwertes der Anzahl der Foci pro Zelle aller Patienten zum Zeitpunkt t 5. In der Altersgruppe 50 bis 59 Jahre liegt der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 5 29 % unterhalb des Mittelwertes der Anzahl der Foci pro Zelle aller Patienten zum Zeitpunkt t 5. In der Altersgruppe 60 bis 69 Jahre liegt der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt

t 5 2 % oberhalb des Mittelwertes der Anzahl der Foci pro Zelle aller Patienten zum Zeitpunkt t 5. In der Altersgruppe 70 bis 79 Jahre liegt der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 5 35 % oberhalb des Mittelwertes der Anzahl der Foci pro Zelle aller Patienten zum Zeitpunkt t 5. In der Altersgruppe 80 bis 89 Jahre liegt der Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 5 14 % oberhalb des Mittelwertes der Anzahl der Foci pro Zelle aller Patienten zum Zeitpunkt t 5.

5 Diskussion

5.1 Nachweis der Entstehung und Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen durch ionisierende Strahlung im Niedrigdosisbereich mittels der γ -H2AX-Methode

5.1.1 Y-H2AX-Methode als Goldstandard

Der zunehmende Einsatz von Röntgenstrahlung in der Medizin trägt zur weiteren Verbesserung einer medizinischen Versorgung auf hohem Niveau in Deutschland bei. Neben den positiven Auswirkungen des Einsatzes von Röntgenstrahlung sind aufgrund der Relevanz für die Gesundheit der gesamten Bevölkerung auch mögliche unerwünschte Wirkungen von großem Interesse. Die Anwendung von Röntgenstrahlung bei CT-Untersuchungen als diagnostische Röntgenuntersuchung bewirkt in Deutschland die größte und am stärksten zunehmende Strahlenexposition des Menschen (Bundesamt für Strahlenschutz 2016). Negative Folgen dieser Strahlenexposition können Strahlenschäden sein. Zu den schwerwiegenden Strahlenschäden gehören Veränderungen an der DNA. Veränderungen an der DNA können zur Entartung und somit zur Krebsentstehung führen. Mathews et al. stellten 2013 in einer Studie eine Erhöhung des Krebsrisikos durch eine CT-Untersuchung, mit einer durchschnittlichen effektiven Strahlendosis von 4,5 mSv, um ca. 24 % fest (Mathews, Forsythe, Brady, Zee, Butler, Goergen, Byrnes, Giles, Wallace, Anderson, Guiver, McGale, Cain, Dowty, Bickerstaffe, Darby 2013). Schwerwiegendste Strahlenschäden sind DNA-Doppelstrangbrüche (Freyschmidt 2001; Kauffmann et al. 2011; Reiser et al. 2011). In der vorliegenden Arbeit wurden die Entstehung und die zeitliche Entwicklung von DNA-Doppelstrangbrüchen nach Einwirkung von Röntgenstrahlung durch CT-Untersuchungen erforscht. Die Arbeit wurde in vivo an Patienten, welche aus einer medizinischen Indikation eine CT-Untersuchung erhielten, durchgeführt. Zur

Quantifizierung von DNA-Doppelstrangbrüchen wurde in der vorliegenden Arbeit die γ -H2AX-Methode verwendet. Der Nachweis des phosphorylierten Histons 2AX der DNA mittels Immunostaining wird seit mehr als 10 Jahren verwendet und gilt als der Goldstandard zum Nachweis von DNA-Doppelstrangbrüchen im Niedrigdosisbereich von unter 1 mGy bei diagnostischen Röntgenuntersuchungen. Hierbei wird ein Antikörper verwendet, welcher an einem γ -H2AX bindet. Ein weiterer fluoreszierender Antikörper bindet an dem ersten Antikörper und kann mittels Fluoreszenzmikroskopie als Focus sichtbar gemacht werden. Es ist in der Literatur beschrieben, dass ein Focus genau einem DNA-Doppelstrangbruch entspricht. Die γ -H2AX-Methode wurde bereits in einigen In-vitro-Studien angewendet, um Strahlenschäden als DNA-Doppelstrangbrüche nach Einwirkung ionisierender Strahlung zu quantifizieren. Des Weiteren wurde die Methode bereits in klinischen In-vivo-Studien angewendet, um Strahlenschäden als DNA-Doppelstrangbrüche nach Einwirkung ionisierender Strahlung als Röntgenstrahlung durch CT-Untersuchungen zu quantifizieren (Kuefner et al. 2015).

5.1.2 Limitationen der γ -H2AX-Methode

Die Erfassung von DNA-Doppelstrangbrüchen erfolgt in Lymphozyten von Patienten nach Exposition von Röntgenstrahlung durch CT-Untersuchungen. In klinischen Studien ist die Gewinnung von Lymphozyten von Patienten in Form von Blutentnahmen praktikabel, schnell und komplikationsarm durchführbar. Problematisch für die korrekte Erfassung der DNA-Doppelstrangbrüche ist jedoch, dass während einer CT-Untersuchung nur ein Teil des Körpers des Patienten der Röntgenstrahlung ausgesetzt ist. Die durch Blutentnahme gewonnenen Lymphozyten zirkulieren nach der Einwirkung von Röntgenstrahlung und vor der Blutentnahme im gesamten Blutgefäßsystem des Patienten. Die Lymphozyten aus den Körperregionen, welche der Röntgenstrahlung ausgesetzt waren, in denen es

hierdurch zu DNA-Doppelstrangbrüchen gekommen ist, vermischen sich über das Blutgefäßsystem mit Lymphozyten aus Körperregionen, welche keiner Röntgenstrahlung ausgesetzt waren. Daher kommt es in einer Blutprobe eines Patienten nach einer CT-Untersuchung zu einer Reduktion der Anzahl von DNA-Doppelstrangbrüchen in den Lymphozyten gegenüber der tatsächlichen Anzahl von DNA-Doppelstrangbrüchen in den Lymphozyten der bestrahlten Körperregion. Es ist somit anzunehmen, dass die Anzahl der DNA-Doppelstrangbrüche nach Einwirkung von Röntgenstrahlung höher liegt, als die in den Lymphozyten einer Blutprobe gemessene Anzahl der DNA-Doppelstrangbrüche.

Es ist des Weiteren anzunehmen, dass ein erhöhtes oder vermindertes Blutvolumen eines Patienten das Messergebnis verändern kann. Zudem ist das Blutvolumen in unterschiedlichen Organen nicht einheitlich. Dies führt möglicherweise bei gleicher effektiver Dosis durch eine Röntgenuntersuchung aufgrund eines geringeren Blutvolumens mit einer geringeren Anzahl von Lymphozyten in einem Organ zu einer geringeren Anzahl von γ -H2AX-Foci, gegenüber einem Organ mit einem größeren Blutvolumen (Schwab, Brand, Schlude et al. 2013).

Eine weitere Limitation der Methode besteht darin, dass möglicherweise falsch reparierte DNA-Doppelstrangbrüche nicht erfasst werden. Kommt es im Rahmen eines Reparaturprozesses zu einer fehlerhaften Reparatur und trotzdem zu einer erneuten Dephosphorylierung des Histons H2AX, könnte der weiter vorhandene DNA-Doppelstrangbruch mittels der γ -H2AX-Methode nicht erfasst werden. Dennoch handelt es sich bei der γ -H2AX-Methode um eine valide und derzeit die sensitivste Methode, um Strahlenschäden als DNA-Doppelstrangbrüche durch ionisierende Strahlung im Niedrigdosisbereich von CT-Untersuchungen zu erfassen (Kuefner et al. 2015).

5.1.3 Vergleich Zeitpunkt t 1 mit der Literatur

Für die vorliegende Arbeit wurde die γ -H2AX-Methode zunächst im hiesigen Labor etabliert und an die hiesigen Gegebenheiten angepasst. Zur Messung von DNA-Doppelstrangbrüchen in Bezug zu einer CT-Untersuchung erfolgten Blutentnahmen von insgesamt 47 Patienten jeweils zu den 5 Zeitpunkten t 1 bis t 5. Die Blutentnahme zum Zeitpunkt t 1 erfolgte jeweils vor der Einwirkung von Röntgenstrahlung durch die CT-Untersuchung. Der Mittelwert der Foci aller Patienten zum Zeitpunkt t 1 liegt bei 0,048 Foci pro Zelle. Die nachgewiesenen γ -H2AX-Foci sind auf natürliche und zivilisatorische Strahlenexposition sowie auf intrinsische Schädigungen der DNA zurückzuführen (Bernstein et al. 2013).

Im Vergleich mit der Literatur liegt in der vorliegenden Arbeit der Mittelwert der Foci pro Zelle vor der Einwirkung von Röntgenstrahlung im Bereich bereits publizierter Daten. Brand et al. 2012, Geisel et al. 2008, Geisel et al. 2012, Kuefner et al. 2009a, Kuefner et al. 2009b, Kuefner et al. 2010a, Kuefner et al. 2010b, Lobrich et al. 2005, Rothkamm et al. 2007 und Wang et al. 2017 haben zum Zeitpunkt t 1 Werte im Bereich von 0,048 Foci pro Zelle veröffentlicht (Brand, Sommer, Achenbach, Anders, Lell, Lobrich, Uder, Kuefner 2012; Geisel, Heverhagen, Kalinowski, Wagner 2008; Geisel, Zimmermann, Rief, Greupner, Laule, Knebel, Hamm, Dewey, 2012; Kuefner, Grudzenski, Schwab, Azoulay, Heckmann, Heinrich, Lobrich, Uder 2009a; Kuefner, Grudzenski, Schwab, Wiederseiner, Heckmann, Bautz, Lobrich, Uder, 2009b; Kuefner, Hinkmann, Alibek, Azoulay, Anders, Kalender, Achenbach, Grudzenski, Lobrich, Uder, 2010a; Kuefner, Grudzenski, Hamann, Achenbach, Lell, Anders, Schwab, Häberle, Lobrich, Uder, 2010b; Lobrich, Rief, Kuhne, Heckmann, Fleckenstein, Rübe, Uder, 2005; Rothkamm, Balroop, Shekhdar, Fernie, Goh, 2007; Wang L, Li, Wang XM, Hao, Jie-Bao, Hu S, Hu CH 2017).

In den Studien von Grudzenski et al. 2009, Kuefner et al. 2013, May et al. 2012, Piechowiak et al. 2015 und Schwab et al. 2013 zeigt sich eine erhöhte Anzahl der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 1, vor der Einwirkung von Röntgenstrahlung, gegenüber der in der vorliegenden Arbeit festgestellten Anzahl von 0,048 Foci pro Zelle. In der zum Zeitpunkt t 1 mit der minimalen angegebenen Anzahl der Foci pro Zelle am weitesten von der vorliegenden Arbeit abweichenden Studie von Kuefner et al. 2013, liegt die minimale Anzahl der Foci zum Zeitpunkt t 1 bei 0,11 Foci pro Zelle. In den Studien von Kuefner et al. 2009a und Kuefner et al. 2009b zeigen sich mit den maximal angegebenen Foci von jeweils 0,22 Foci pro Zelle die größten Abweichungen zum Zeitpunkt t 1 gegenüber dem in der vorliegenden Arbeit gemessenen Mittelwert, welches einer Steigerung um das Fünffache (Faktor 5) entspricht (Grudzenski, Kuefner, Heckmann, Uder, Lobrich 2009; May, Brand, Wuest, Anders, Kuwert, Prante, Schmidt, Maschauer, Semelka, Uder, Kuefner 2012; Kuefner, Brand, Engert, Kappey, Uder, Distel, 2013; Schwab, Brand, Schlude, Wuest, Meier-Meitingner, Distel, Schulz-Wendtland, Uder, Kuefner, 2013).

Beels et al. 2009, Fukumoto et al. 2017 und Vandevorode et al. 2015a beschrieben zum Zeitpunkt t 1 deutlich höhere Werte bis 2,0 Foci pro Zelle (Beels, Bacher, De Wolf, Werbrouck, Thierens, 2009; Fukumoto, Ishida, Sakai, Tashiro, Ishida, Nakano, Tatsugami, Awai 2017; Vandevorode, Franck, Bacher, Breyssem, Smet, Ernst, De Backer, Van De Moortele, Smeets, Thierens 2015a). In den genannten Studien liegt die Anzahl der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 1 um den Faktor 10 bzw. um den Faktor 29 und um den Faktor 25 über der Anzahl der Foci pro Zelle der anderen genannten Studien. Zudem ist in den Studien von Beels et al. 2009 und Vandevorode et al. 2015 die Abhängigkeit der Entstehung der Foci pro Zelle von der Strahlendosis der CT-Untersuchung im Gegensatz zu den Ergebnissen der anderen Studien nicht linear. Somit erscheint die Validität dieser Daten unklar.

In den Studien von Beels et al. 2012 und Stehli et al. 2014 sind keine Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 1 angegeben, und somit sind die Ergebnisse der genannten Studien zum Zeitpunkt t 1 nicht mit den Ergebnissen anderer Studien zum Zeitpunkt t 1 vergleichbar (Beels, Bacher, Smeets, Verstraete, Vral, Thierens, 2012; Stehli, Fuchs, Ghadri, Gaemperli, Fiechter, Kaufmann 2014).

5.1.4 Vergleich Zeitpunkt t 2 mit der Literatur

Zum Zeitpunkt t 2, fünf Minuten nach der Einwirkung von Röntgenstrahlung, liegt in der vorliegenden Arbeit der Mittelwert bei 0,743 Foci pro Zelle. Im Vergleich zum Mittelwert der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 1 zeigt sich zum Zeitpunkt t 2 ein Anstieg des Mittelwertes der Foci pro Zelle von 1548 %. In der vorliegenden Arbeit bestätigt sich eine ausgeprägte Zunahme von DNA-Doppelstrangbrüchen nach Einwirkung ionisierender Strahlung als Röntgenstrahlung durch eine CT-Untersuchung. Die Zunahme von DNA-Doppelstrangbrüchen kann in vivo in Lymphozyten bei Patienten nach CT-Untersuchungen erfolgreich erfasst und quantifiziert werden.

Im Vergleich mit der Literatur liegt in der vorliegenden Arbeit der Mittelwert der Foci pro Zelle nach der Einwirkung von Röntgenstrahlung im Bereich bereits publizierter Daten. Kuefner et al. 2009a, Kuefner et al. 2009b, Kuefner et al. 2013 und Wang et al. 2017 haben zum Zeitpunkt t 2 Werte im Bereich von 0,743 Foci pro Zelle veröffentlicht.

In der Studie von Beels et al. 2009 liegen die Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 ebenfalls im Bereich der Foci pro Zelle der vorliegenden Studie. Unterschiede gibt es jedoch in der genannten Studie in der Anzahl der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 1. Hier liegt die Anzahl um den Faktor 10 über der Anzahl der Foci pro Zelle der anderen genannten Studien. Zudem ist die Abhängigkeit der Entstehung der Foci

pro Zelle von der Strahlendosis der CT-Untersuchung im Gegensatz zu den Ergebnissen der anderen Studien nicht linear. Somit erscheint die Validität dieser Daten unklar.

Beels et al. 2012 zeigten zum Zeitpunkt t 2 Foci pro Zelle im Bereich der Foci der vorliegenden Arbeit. Allerdings sind hier, wie weiter oben beschrieben, keine Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 1 angegeben. Somit sind die Daten der Studie für die Fragestellung der Veränderung der Foci pro Zelle nach der Einwirkung von Röntgenstrahlung gegenüber vor der Einwirkung von Röntgenstrahlung nicht verwertbar.

In der Untersuchung von Fukomoto et al. 2017 imponiert ein deutlich ausgeprägter Anstieg der Foci zum Zeitpunkt t 2 bis hin zu 2,1 Foci pro Zelle. Wie weiter oben beschrieben zeigte sich in der genannten Studie jedoch bereits ein deutlich erhöhter Wert der Foci zum Zeitpunkt t 1. Somit erscheint die Validität dieser Daten unklar.

In den Studien von Brand et al. 2012, Geisel et al. 2008, Geisel et al. 2012, Grudzenski et al. 2009, Kuefner et al. 2010a, Kuefner et al. 2010b, Lobrich 2005, May et al. 2012, Piechowiak et al. 2015, Rothkamm et al. 2007 und Schwab et al. 2013 zeigt sich ein geringerer Anstieg der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 als in der vorliegenden Arbeit. In der zum Zeitpunkt t 2 mit der maximalen angegebenen Anzahl der Foci pro Zelle am weitesten von der vorliegenden Arbeit abweichenden Studie von Schwab et al. 2013 liegt die maximale Anzahl der Foci zum Zeitpunkt t 2 bei 0,026 Foci pro Zelle. In der Studie von Schwab et al. 2013 zeigt sich mit den minimal angegebenen Foci mit 0,001 Foci pro Zelle ebenfalls die größte Abweichung zum Zeitpunkt t 2 gegenüber der vorliegenden Arbeit. Die maximale Abweichung der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2, der Studie von Schwab et al. 2013 gegenüber der vorliegenden Arbeit, beträgt den ca. 90-fachen Wert (Faktor 90). Bei der genannten Studie wurden DNA-Doppelstrangbrüche nach

Mammographie-Untersuchungen beschrieben. Die effektive Dosis bei Mammographien ist deutlich geringer als bei CT-Untersuchungen (Kuefner et al. 2015). Die deutlich geringeren Werte der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 in der genannten Studie im Vergleich mit der vorliegenden Arbeit sind möglicherweise durch diesen Umstand erklärbar.

Vandevoorde et al. 2015a zeigten zum Zeitpunkt t 2 maximal 0,49 Foci pro Zelle. Diese lagen ebenfalls unterhalb der Foci pro Zelle in der vorliegenden Arbeit. In der genannten Studie liegt die Anzahl der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 1, wie weiter oben beschrieben, um den Faktor 25 über der Anzahl der Foci pro Zelle der anderen genannten Studien. Zudem ist die Abhängigkeit der Entstehung der Foci pro Zelle von der Strahlendosis der CT-Untersuchung im Gegensatz zu den Ergebnissen der anderen Studien nicht linear. Somit erscheint die Validität dieser Daten unklar.

In der Studie von Stehli et al. 2014 liegen die Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 2 mit maximal 0,3 Foci pro Zelle ebenfalls unterhalb der Foci der vorliegenden Arbeit. Allerdings sind hier, wie weiter oben beschrieben, keine Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 1 angegeben. Somit sind die Ergebnisse der genannten Studie zum Zeitpunkt t 2 für die Fragestellung des Anstiegs der Foci pro Zelle nach der Einwirkung von Röntgenstrahlung nicht mit den Ergebnissen anderer Studien zum Zeitpunkt t 2 vergleichbar.

Insgesamt sind in den beschriebenen Studien die Folgen sehr unterschiedlicher Röntgenuntersuchungen erfasst worden. Es handelt sich um CT-Untersuchungen unterschiedlicher Körperregionen, PET-CT-Untersuchungen unterschiedlicher Körperregionen, Angiographien unterschiedlicher Körperregionen und um Mammographien. Diese unterschiedlichen Röntgenuntersuchungen unterschiedlicher Körperregionen verursachen eine unterschiedliche effektive Dosis im bestrahlten Gewebe. Auch in der vorliegenden Arbeit kam es durch die

CT-Untersuchungen aufgrund von Untersuchungen unterschiedlicher Körperregionen mit unterschiedlichem Dosislängenprodukt zu einer heterogenen Strahlenexposition der Patienten. In der vorliegenden Arbeit liegt der Mittelwert des Dosislängenproduktes aller Patienten bei 528 mGy x cm. Um die gewonnenen Daten miteinander vergleichen zu können, wurde in der vorliegenden Arbeit das Dosislängenprodukt auf 1000 mGy * cm normiert. Bei der Auswertung der Daten in der vorliegenden Arbeit ohne Normierung des Dosislängenproduktes auf 1000 mGy * cm zeigt sich zum Zeitpunkt t 2 ein geringerer Wert von 0,198 Foci pro Zelle.

Die Blutentnahme zum Zeitpunkt t 2 erfolgte in den meisten genannten Studien in einem Zeitraum von unmittelbar nach der CT-Untersuchung bis zu 30 Minuten nach der CT-Untersuchung. Eine Ausnahme bildete die Studie von Geisel et al. 2012, in der die Blutentnahme zum Zeitpunkt t 2 nach 60 Minuten erfolgte. In der vorliegenden Arbeit erfolgte die Blutentnahme zum Zeitpunkt t 2 nach 5 Minuten. Ein längeres Intervall zwischen der CT-Untersuchung und der Verarbeitung der Probe im Labor begünstigt Reparaturprozesse von DNA-Doppelstrangbrüchen im Organismus des Patienten bzw. in der Blutprobe und führt zu einer Reduktion der detektierbaren γ -H2AX-Foci und somit zu einer Verfälschung der Ergebnisse. Um die Ergebnisse weiterhin zu objektivieren, wurden in der vorliegenden Arbeit die Blutproben nach der Blutentnahme bis zur unmittelbaren Verarbeitung im Labor gekühlt. Durch die temperaturbedingte Verlangsamung der Stoffwechselprozesse in der Blutprobe sollten DNA-Reparaturprozesse reduziert werden.

5.1.5 Vergleich der Zeitpunkte t 3 bis t 5 mit der Literatur

Zu den Zeitpunkten t 3 bis t 5 zeigt sich in der vorliegenden Arbeit eine kontinuierliche Reduktion der Foci pro Zelle. Zum Zeitpunkt t 3 zeigen sich 0,497 Foci pro Zelle, zum Zeitpunkt t 4 0,374 Foci pro Zelle und zum Zeitpunkt t 5 0,205

Foci pro Zelle. Es imponiert, dass die Anzahl der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 5, 24 Stunden nach der Einwirkung von Röntgenstrahlung, den Ausgangswert zum Zeitpunkt t 1, vor der Einwirkung von Röntgenstrahlung, nicht erreicht und weiterhin erhöht ist. Die Anzahl der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 5 ist noch um 427 % erhöht gegenüber dem Zeitpunkt t 1. Von den 47 Patienten der vorliegenden Arbeit wird bei 9 Patienten der Ausgangswert der Foci pro Zelle wieder erreicht oder unterschritten. Bei 38 Patienten liegt die Anzahl der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 5 über der Anzahl der Foci pro Zelle zum Zeitpunkt t 1. Es ist zu folgern, dass die durch die Einwirkung von Röntgenstrahlung entstandenen DNA-Doppelstrangbrüche nach 24 Stunden nicht vollständig repariert wurden.

Im Vergleich der vorliegenden Arbeit mit der Literatur wurden zuvor bereits Daten mit erhöhten Foci pro Zelle, 24 Stunden nach der Einwirkung von Röntgenstrahlung, beschrieben. Jedoch sind in der Mehrzahl der genannten Studien zum Zeitpunkt 24 Stunden nach der Einwirkung von Röntgenstrahlung keine Blutentnahmen erfolgt bzw. keine Angaben zu den Foci pro Zelle zu entnehmen. Geisel et al. 2008 beschrieben jedoch wie in der vorliegenden Arbeit eine erhöhte Anzahl der Foci pro Zelle, 24 Stunden nach der Einwirkung von Röntgenstrahlung durch interventionelle Angiographie, gegenüber Zeitpunkt t 1, vor der Einwirkung von Röntgenstrahlung. Hier erfolgte die Blutentnahme aus der Extremität, welche der Röntgenstrahlung direkt ausgesetzt war. In der selben Studie wurde bei einer Blutentnahme unabhängig von der Extremität, welche der Röntgenstrahlung direkt ausgesetzt war, zum Zeitpunkt t 5 bei einigen Patienten der Ausgangswert zum Zeitpunkt t 1 wieder erreicht. In den Studien von Lobrich et al. 2005 und Geisel et al. 2012 zeigte sich im Gegensatz zur vorliegenden Arbeit zum Zeitpunkt t 5 ein Erreichen oder Unterschreiten der Ausgangswerte der Foci pro Zelle.

5.2 Einfluss des Patientenalters auf die Entstehung und Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen durch ionisierende Strahlung im Niedrigdosisbereich

5.2.1 Vergleich der Altersgruppen zum Zeitpunkt t 1

Der zunehmende Einsatz von Röntgenstrahlung in der Medizin trägt durch eine weitere Verbesserung der medizinischen Versorgung in Deutschland auch zu einer höheren Lebenserwartung bei (Bundesamt für Strahlenschutz 2015). Im Rahmen der medizinischen Versorgung werden vermehrt ältere Menschen behandelt und vermehrt medizinische röntgenologische Verfahren angewendet (Statistisches Bundesamt 2016; Bundesamt für Strahlenschutz 2016; United Nations 2018). Neben den positiven Auswirkungen des Einsatzes von Röntgenstrahlung sind, aufgrund der Relevanz für die Gesundheit dieses großen und wachsenden Teils der Bevölkerung, auch mögliche unerwünschte Wirkungen von großem Interesse.

In der vorliegenden Arbeit wird der Einfluss des Patientenalters auf die Entstehung von DNA-Doppelstrangbrüchen nach Einwirkung ionisierender Strahlung in Form von Röntgenstrahlung durch CT-Untersuchungen erforscht. Die 47 in die Untersuchung eingeschlossenen Patienten sind in folgende Altersgruppen eingeteilt: Altersgruppe 1 im Alter von 20 bis 29 Jahre, Altersgruppe 2 im Alter von 30 bis 39 Jahre, Altersgruppe 3 im Alter von 40 bis 49 Jahre, Altersgruppe 4 im Alter von 50 bis 59 Jahre, Altersgruppe 5 im Alter von 60 bis 69 Jahre, Altersgruppe 6 im Alter von 70 bis 79 Jahre und Altersgruppe 7 im Alter von 80 bis 89 Jahre. Bei allen Patienten wurde die Anzahl der γ -H2AX-Foci vor und nach einer CT-Untersuchung mittels Immunostaining ermittelt. Zum Zeitpunkt t 1, vor der Einwirkung von Röntgenstrahlung durch die CT-Untersuchung, imponiert im Vergleich mit den anderen Altersgruppen die größte Anzahl der Mittelwerte der Foci pro Zelle in den ältesten Altersgruppen 70 bis 79 Jahre und 80 bis 89 Jahre.

In der Altersgruppe 70 bis 79 Jahre liegen die Foci pro Zelle 56 % und in der Altersgruppe 80 bis 89 Jahre 60 % über dem Durchschnitt aller Altersgruppen.

Die Daten der Altersgruppen zum Zeitpunkt t 1 der vorliegenden Arbeit korrelieren mit bereits publizierten Daten über altersabhängige Veränderungen der DNA bei Menschen und bei Tieren. Franzke et al. 2015 diskutierten bei älteren Menschen vermehrte DNA- und Chromosomenschäden, welche durch körperliches und geistiges Training sowie durch Ernährung positiv beeinflusst werden können (Franzke, Halper, Hofmann, Oesen, Pierson, Cremer, Bacher, Fuchs, Baierl, Tosevska, Strasser, Wessner, Wagner, 2015). Seluanov et al. 2004 zeigten eine verminderte Fähigkeit zur Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen durch eine verminderte Aktivität der nicht-homologen-End-zu-End-Verknüpfung bei menschlichen Zellen in vitro (Seluanov, Mittelman, Pereira-Smith, Wilson, Gorbunova 2004). Parashar et al. 2008 zeigten eine verminderte Strahlenresistenz älterer Fruchtfliegen gegenüber jüngeren Fruchtfliegen, durch eine verminderte Reparaturfähigkeit sekundärer Strahlenschäden nach Bildung freier Sauerstoffradikale (Parashar, Frankel, Lurie, Rogina 2008). In der Untersuchung von Sakhugi et al. 2014 wurden bei älteren Ratten vermehrte DNA-Schäden durch freie Sauerstoffradikale gegenüber jüngeren Ratten beschrieben (Sakhugi, Hasenan, Jubri 2014). Selvaratnam et al. 2015 veröffentlichten in ihrer Untersuchung an Keimzellen älterer Ratten gegenüber jüngeren Ratten eine verminderte Anpassungsfähigkeit an oxidativen Stress und resultierend vermehrte DNA-Schäden (Selvaratnam, Paul, Robaire 2015). In den Studien von Vyayanti et al. 2006, Rao 2007 und Sharma 2007 zeigte sich eine verminderte Fähigkeit zur Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen durch eine verminderte Aktivität der nicht-homologen-End-zu-End-Verknüpfung bei älteren Ratten (Vyayanti, Rao 2006; Rao 2007; Sharma 2007). Auch in der vorliegenden Arbeit zeigen sich bei den ältesten Patienten vermehrte bereits vorhandene DNA-Doppelstrangbrüche vor der Einwirkung ionisierender Strahlung als Röntgenstrahlung durch eine CT-Untersuchung. Dies ist auf die weiter oben beschriebene verminderte

Reparaturfähigkeit von DNA-Doppelstrangbrüchen zurückzuführen.

5.2.2 Vergleich der Altersgruppen zum Zeitpunkt t 2

Zum Zeitpunkt t 2, 5 Minuten nach der Einwirkung von Röntgenstrahlung durch die CT-Untersuchung, imponiert im Vergleich mit den anderen Altersgruppen die größte Anzahl der Mittelwerte der Foci pro Zelle in den mittleren Altersgruppen. Die vermehrte Anzahl der Foci pro Zelle zeigt sich in geringerer Ausprägung in der Altersgruppe 30 bis 39 Jahre und sehr ausgeprägt in der Altersgruppe 40 bis 49 Jahre. In der Altersgruppe 30 bis 39 Jahre liegen die Foci pro Zelle 19 % und in der Altersgruppe 40 bis 49 Jahre 160 % über dem Mittelwert aller Altersgruppen.

In bisherigen Studien zeigten sich im Gegensatz zur vorliegenden Arbeit vermehrte Strahlenschäden bei Kindern und jungen Erwachsenen. In der Studie von Gomolka et al. 2018 wurde in vitro nach CT-Untersuchungen eine erhöhte Anzahl von Chromosomenveränderungen bei Neugeborenen und Kindern unter 5 Jahren gegenüber Erwachsenen nachgewiesen. Die Anzahl von γ -H2AX-Foci war in der Studie jedoch im Widerspruch zu anderen Studien bei Kindern gegenüber Erwachsenen nicht erhöht (Gomolka, Oestreicher, Rößler, Samaga, Endesfelder, Lang, Neumaier, Belka, Niemeyer, Kiechle, Hasbargen, Hübener, Kirlum, Kulka, Rosenberger, Walsh, Baatout, Kesminiene, Lindholm, 2018). Kuefner et al. 2015 diskutierten altersabhängige Unterschiede bei der Entstehung von γ -H2AX-Foci bei diesbezüglich jedoch nur wenigen publizierten Daten. Pauwels und Bourguignon 2012 beschrieben in ihrer Studie ein erhöhtes Risiko der Krebsentstehung nach CT-Untersuchungen bei Kindern. In der Studie von Pearce et al. 2012 wird eine erhöhte Strahlensensitivität bei Kindern gegenüber Erwachsenen im Zusammenhang mit vermehrter Krebsentstehung im Verlauf nach CT-Untersuchungen gezeigt (Pearce, Salotti, Little, McHugh, Lee, Kim, Howe, Ronckers, Rajaraman, Sir Craft, Parker, Berrington de Gonzales 2012). Stephan et

al. 2007 beschrieben vermehrte Chromosomenschäden als Nachweis einer erhöhten Radiosensitivität bei CT-Untersuchungen von Kindern unter 10 Jahren (Stephan, Schneider, Panzer, Walsh, Oestreicher 2007). Vandevorde et al. 2015 b beschrieben mit dem Alter abnehmende DNA-Doppelstrangbrüche nach CT-Untersuchungen.

In der vorliegenden Arbeit imponieren nach der Einwirkung ionisierender Strahlung als Röntgenstrahlung durch eine CT-Untersuchung vermehrte DNA-Doppelstrangbrüche in der mittleren Altersgruppe von 40 bis 49 Jahren. Bisher liegen in der Literatur nur wenige Studien zum Einfluss des Patientenalters auf die Entstehung und Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen durch ionisierende Strahlung im Niedrigdosisbereich von CT-Untersuchungen vor. Die Diskrepanz der Daten der vorliegenden Arbeit zu den beschriebenen bisher veröffentlichten Studien ist möglicherweise dadurch zu erklären, dass bisher Strahlenschäden vorwiegend bei Kindern und bei älteren Menschen untersucht wurden. Untersuchungen zur Strahlensensitivität von Menschen mittleren Alters liegen bisher nur sehr wenige vor.

5.2.3 Vergleich der Altersgruppen zum Zeitpunkt t 5

Zum Zeitpunkt t 5, 24 Stunden nach der Einwirkung von Röntgenstrahlung durch die CT-Untersuchung, imponiert im Vergleich mit den anderen Altersgruppen die größte Anzahl der Mittelwerte der Foci pro Zelle in der jüngsten und in den ältesten Altersgruppen. Die vermehrte Anzahl der Foci pro Zelle zeigt sich in geringerer Ausprägung in den älteren Altersgruppen 60 bis 69 Jahre, 70 bis 79 Jahre und 80 bis 89 Jahre, und sehr ausgeprägt in der Altersgruppe 20 bis 29 Jahre. In der Altersgruppe 60 bis 69 Jahre liegen die Foci pro Zelle 2 % über dem Mittelwert, in der Altersgruppe 70 bis 79 Jahre bei 35 % über dem Mittelwert, in der Altersgruppe 80 bis 89 Jahre 14 % über dem Mittelwert und in der Altersgruppe 20 bis 29 Jahre

88 % über dem Mittelwert aller Altersgruppen.

In bisherigen Studien gibt es nur sehr wenige Daten zum Einfluss des Patientenalters auf die Entstehung und Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen als γ -H2AX-Foci 24 Stunden nach der Einwirkung von ionisierender Strahlung im Niedrigdosisbereich von CT-Untersuchungen. Eine Erklärung für die in den ältesten Altersgruppen von 60 bis 89 Jahren im Vergleich mit den anderen Altersgruppen erhöhte Anzahl der Mittelwerte der Foci pro Zelle 24 Stunden nach der CT-Untersuchung könnte die bereits weiter oben beschriebene verminderte Reparaturkapazität von DNA-Doppelstrangbrüchen bei älteren Menschen sein (Seluanov et al. 2004). Zum Zeitpunkt t 5 imponiert in der jüngsten Altersgruppe im Vergleich mit den anderen Altersgruppen eine deutlich erhöhte Anzahl der Mittelwerte der Foci pro Zelle. Dieser Effekt ist zum Zeitpunkt t 2 nicht zu beobachten. Eine mögliche Erklärung für diese Beobachtung ist eine möglicherweise verzögerte Entstehung von γ -H2AX-Foci nach der Einwirkung ionisierender Strahlung bei jüngeren Menschen. In den weiter oben genannten Studien von Pauwels und Bourguignon 2012 und Pearce et al. 2007 zeigte sich eine vermehrte Entstehung von Krebs bei jüngeren Menschen nach Einwirkung ionisierender Strahlung. Die Effekte wurden erst einige Zeit nach der Exposition beobachtet. Die Kinetik der Strahlenschäden wurde hier nicht genauer untersucht. In den Untersuchungen von Gomolka et al. 2018 und Stepahn et al. 2007 mit Nachweis von Chromosomenveränderungen bei jüngeren Menschen nach Einwirkung ionisierender Strahlung sind die Zeitpunkte der Blutentnahmen bzw. der weiteren Verarbeitung der Proben nicht ersichtlich. Möglicherweise ist die in bisherigen Studien beschriebene erhöhte Radiosensitivität jüngerer Menschen erst mit einer Latenz von vierundzwanzig Stunden nach der Einwirkung ionisierender Strahlung nachweisbar.

5.3 Ausblick

Medizinische radiologische Verfahren tragen in bedeutendem Maße zur Gesundheitsversorgung und damit zur steigenden Lebenserwartung in Deutschland bei. Dabei bewirken diagnostische CT-Untersuchungen jedoch die größte Strahlenexposition des Menschen (Bundesamt für Strahlenschutz 2015). In der vorliegenden Studie zeigt sich die γ -H2AX-Methode, wie in zuvor durchgeführten Studien (Kuefner et al. 2015), als wirksam zur Erfassung und Quantifizierung von Strahlenschäden nach ionisierender Strahlung im Niedrigdosisbereich durch CT-Untersuchungen. Die γ -H2AX-Methode ist ebenso wirksam zur Erfassung von Strahlenschäden in unterschiedlichen Altersgruppen. Damit bietet sie eine valide Grundlage, auch Strahlenschäden in unterschiedlichen Altersgruppen zu erfassen.

In der vorliegenden Arbeit kann in allen Altersgruppen nachgewiesen werden, dass es nach Einwirkung ionisierender Strahlung zu einem deutlichen Anstieg und im zeitlichen Verlauf zu einem kontinuierlichen Absinken der γ -H2AX-Foci als Nachweis von DNA-Doppelstrangbrüchen kommt. Hier liegen die Mittelwerte der Foci der Gesamtheit der Patienten im Bereich bereits publizierter Daten. 24 Stunden nach der Einwirkung ionisierender Strahlung liegt der Wert der DNA-Doppelstrangbrüche in der vorliegenden Arbeit in allen Altersgruppen noch über dem Wert vor der Einwirkung ionisierender Strahlung. Diesbezüglich zeigt sich die bereits publizierte Literatur nicht einheitlich. In einigen Studien sind die DNA-Doppelstrangbrüche 24 Stunden nach Einwirkung ionisierender Strahlung wieder im Bereich wie vor der Einwirkung ionisierender Strahlung, in anderen Studien sind die DNA-Doppelstrangbrüche noch erhöht.

Es zeigt sich in der vorliegenden Arbeit eine hohe Standardabweichung der ermittelten γ -H2AX-Foci als Zeichen einer breiten Streuung der Werte zwischen den einzelnen Patienten. Im Vergleich mit der Literatur korreliert die in der

vorliegenden Arbeit beschriebene hohe Standardabweichung mit bereits publizierten Daten. In einigen der genannten Studien zeigt sich eine breite Streuung der Werte zwischen den einzelnen Patienten (Kuefner et al. 2015). Als mögliche Ursache für die breite Streuung der Werte kommt der weiter oben bereits beschriebenen Effekt in Betracht, dass das Blutvolumen der Patienten unterschiedlich ist. Hierdurch kann es zu einer unterschiedlichen Durchmischung der bestrahlten mit den nicht-bestrahlten Lymphozyten kommen. Eine weitere mögliche Ursache für die hohe Standardabweichung der Mittelwerte der Foci pro Zelle kann das auch in der vorliegenden Arbeit nicht einheitliche Dosislängenprodukt sein. Die unterschiedlichen CT-Untersuchungen mit unterschiedlichen bestrahlten Körperregionen haben eine unterschiedliche resultierende Strahlenexposition verursacht. Durch Normierung auf ein Dosislängenprodukt von $1000 \text{ mGy} \cdot \text{cm}$ wird in der vorliegenden Arbeit dieser Umstand berücksichtigt. Für zukünftige Untersuchungen sollte ein möglichst einheitliches Dosislängenprodukt der CT-Untersuchungen angestrebt werden.

Ein sowohl in der vorliegenden Arbeit als auch in der Literatur deutlich zu beobachtendes Phänomen ist eine interindividuell unterschiedliche Reaktion auf eine Strahlenexposition (Lobrich et al. 2005). Es kommt sowohl eine individuell erhöhte Sensitivität gegenüber ionisierender Strahlung als auch eine individuell unterschiedliche Reparaturfähigkeit entstandener Strahlenschäden oder eine Kombination aus beidem in Betracht. Für die Zukunft ist es wünschenswert, Patienten mit erhöhter Radiosensitivität vor einer Strahlenexposition durch medizinische Maßnahmen zu identifizieren, um die Indikation für die Anwendung ionisierender Strahlung entsprechend strenger zu stellen bzw. bei strahlentherapeutischer Anwendung die individuell optimale Dosis besser vorhersagen und applizieren zu können. Hierzu erscheint die γ -H2AX-Methode für eine klinische Anwendung denkbar.

In der vorliegenden Arbeit wurden Patienten ausgeschlossen, welche minderjährig waren, an einer Leukämie bzw. einem Lymphom litten oder in der Vergangenheit gelitten haben, innerhalb der letzten sechs Monate einer strahlentherapeutischen oder chemotherapeutischen Behandlung unterzogen wurden, und solche, die innerhalb der letzten 3 Tage einer radiologischen oder szintigraphischen Untersuchung ausgesetzt waren. Dieses Vorgehen erscheint auch für zukünftige Studien sinnvoll. Um mögliche Verfälschungen der Ergebnisse zu vermeiden, sollten in zukünftigen Studien Patienten ausgewählt werden, welche ähnliche Vorerkrankungen aufweisen. Ebenfalls Einfluss auf die resultierende Strahlenexposition von Patienten bei CT-Untersuchungen kann ggf. verwendetes Röntgenkontrastmittel haben. Hier kommt es durch die hohe Ordnungszahl des verwendeten Jod im Kontrastmittel zu einer verstärkten Absorption der ionisierenden Strahlung im Gewebe des Patienten (Grudzenski et al. 2009, Pathe 2011, Piechowiak 2015). In zukünftigen Studien sollte die Verwendung von Kontrastmittel beim Vergleich der Daten verschiedener Patienten Berücksichtigung finden. Bisherige Studien hatten in vivo geringe Patientenzahlen. In die vorliegende Arbeit sind bereits 47 Patienten eingeschlossen. Aufgrund der geringen Größenordnung der zu ermittelnden Messwerte sollten in zukünftigen Untersuchungen noch größere Patientenzahlen angestrebt werden, um eine zu starke Veränderung des Gesamtergebnisses durch einzelne Extremwerte zu vermeiden. In Untersuchungen mit größeren Patientenzahlen könnte zudem untersucht werden, ob und ggf. welchen Einfluss das Geschlecht auf die Entstehung von DNA-Doppelstrangbrüchen und deren Reparaturfähigkeit hat.

Bei der vorliegenden Untersuchung handelt es sich um eine präliminäre Studie (Vorstudie). Zum besseren Verständnis der Strahlenwirkungen im Niedrigdosisbereich auf molekularer Ebene und insbesondere der Entstehung und zeitlichen Entwicklung der Phosphorylierung des Histons H2AX nach DNA-Doppelstrangbrüchen bedarf es weiterer Grundlagenforschung. Hier sollte eine Vereinheitlichung der γ -H2AX-Methode angestrebt werden. Eine zukünftige

Möglichkeit, eine Verfälschung der Ergebnisse in einer Blutprobe, zumindest nach der Blutentnahme bis zur Verarbeitung im Labor, zu reduzieren, scheint die Verwendung von Calyculin A zu sein. Der Phosphataseinhibitor Calyculin A verhindert nach der Reparatur eines DNA-Doppelstrangbruchs eine erneute Dephosphorylierung eines durch einen DNA-Doppelstrangbruch zunächst phosphorylierten Histons 2AX. Somit bleibt der DNA-Doppelstrangbruch in der Blutprobe weiter bestehen und kann mittels der γ -H2AX-Methode detektiert werden (Kuefner et al. 2013). Zur weiteren Vereinheitlichung der Methode sollte eine maschinelle Auszählung der Foci etabliert werden. Zur Erfassung von DNA-Doppelstrangbrüchen nach Einwirkung ionisierender Strahlung kommt die Weiterentwicklung der Untersuchung weiterer Zielstrukturen der DNA in Betracht (Lin und Tashiro 2018). Diesbezüglich ist noch weitere Forschung notwendig. Eine vielversprechende Möglichkeit, Strahlenschäden durch CT-Untersuchungen zu reduzieren, scheint die Anwendung antioxidativ wirkender Agentien, wie Vitamin C, Carotinoide oder N-Acetylcystein zu sein (Kuefner et al. 2015). Dies sollte in klinischen Studien weiter erforscht werden. Zudem sollten weitere klinische Studien durchgeführt werden, um den Einfluss des Alters auf Strahlenschäden umfassender zu erforschen. Hier könnten die Beobachtungen der vorliegenden Studie, dass die ältesten Patienten im Vergleich zu den anderen Altersgruppen die meisten DNA-Doppelstrangbrüche vor der Einwirkung ionisierender Strahlung aufweisen, die Patienten mittleren Alters die meisten DNA-Doppelstrangbrüche unmittelbar nach Einwirkung ionisierender Strahlung aufweisen und die jüngsten Patienten die meisten DNA-Doppelstrangbrüche 24 Stunden nach der Einwirkung ionisierender Strahlung aufweisen, weiter untersucht werden.

Literaturverzeichnis

Afanasieva, K. Sivolob, A. (2018). Physical principles and new applications of comet assay. *Biophysical Chemistry*, 238, 1-7.

Beckmann, EC. (2006). CT scanning the early days. *British Journal of Radiology*, 79, 5-8.

Beels, L. Bacher, K. De Wolf, D. Werbrouck, J. Thierens, H. (2009). Gamma-H2AX foci as a biomarker for patient X-ray exposure in pediatric cardiac catheterization: are we underestimating radiation risks? *Circulation*, 120, 1903-1909.

Beels, L. Bacher, K. Smeets, P. Verstraete, K. Vral, A. Thierens, H. (2012). Dose-length product of scanners correlates with DNA damage in patients undergoing contrast CT. *European Journal of Radiology*, 81, 1495-1499.

Bernstein, C. Prasad, AR. Nfonsam, V. Bernstein, H. (2013). DNA Damage, DNA. Repair and Cancer. IntechOpen. DOI: 10.5772/53919.

Beyerer, J. Puente Leon, F. (2002). Die Radontransformation in der digitalen Bildverarbeitung. *At-Automatisierungstechnik*, 50, 472-480.

Brand, M. Sommer, M. Achenbach, S. Anders, K. Lell, M. Lobrich, M. Uder, M. Kuefner, MA. (2012). X-ray induced DNA double-strand breaks in coronary CT angiography: comparison of sequential, low-pitch helical and high-pitch helical data acquisition. *European Journal of Radiology*, 81, 357-62.

Bundesamt für Strahlenschutz (Hrsg.). (2015). Röntgen: Nutzen und Risiko. Mit Röntgenpass. URL:
<https://www.bfs.de/SharedDocs/Downloads/BfS/DE/broschueren/ion/bro-roentgen-nutzen-risiko.html> (21.05.2018).

Bundesamt für Strahlenschutz (Hrsg.). (2016). *Umweltradioaktivität und Strahlenbelastung. Jahresbericht 2015*. Bonn: Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz, Bau und Reaktorsicherheit.

Colvatio, S. Prakash, R. Sung, P. (2010). Promotion and regulation of homologous recombination by DNA helicases. *Methods*, 51, 329-335.

Deutsches Ärzteblatt (Hrsg.). (2017). Lebenserwartung: Menschen könnten in Zukunft bis zu 140 Jahre alt werden. URL:
<https://www.aerzteblatt.de/nachrichten/86809/Lebenserwartung-Menschen-koennten-in-Zukunft-bis-zu-140-Jahre-alt-werden> (21.05.2018).

Dynan, WS. Yoo, S. (1998). Interaction of Ku protein and DNA-dependent protein kinase catalytic subunit with nucleic acids. *Nucleic Acids Research*, 26, 1551-1559.

Fell, VL. Schild-Poulter, C. (2015). The Ku heterodimer: function in DNA repair and beyond. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 763, 15-29.

Franzke, B. Halper, B. Hofmann, M. Oesen, S. Pierson, B. Cremer, A. Bacher, E. Fuchs, B. Baierl, A. Tosevska, A. Strasser, EM. Wessner, B. Wagner, KH. (2015). The effect of six months of elastic band resistance training, nutritional supplementation or cognitive training on chromosomal damage in institutionalized elderly. *Experimental Gerontology*, 65,16-22.

Frasch, G. Kammerer, L. Karofsky, R. Schlosser, A. Spiesl, J. Stegemann, R. (2011). Die berufliche Strahlenexposition des fliegenden Personals in Deutschland 2004-2009. Bericht des Strahlenschutzregisters. Bundesamt für Strahlenschutz. URN: nbn:de0221-201108016029.

Freyschmidt, J. (Hrsg.). (2001). Handbuch diagnostische Radiologie. Strahlenphysik, Strahlenbiologie, Strahlenschutz. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.

Fukumoto, W. Ishida, M. Sakai, C. Tashiro, S. Ishida, T. Nakano, Y. Tatsugami, F. Awai, K. (2017). DNA damage in lymphocytes induced by cardiac CT and comparison with physical exposure parameters. *European Radiology*, 27, 1660-1666.

Geisel, D. Heverhagen, JT. Kalinowski, M. Wagner, HJ. (2008). DNA double-strand breaks after percutaneous transluminal angioplasty. *Radiology*, 248, 852-859.

Geisel, D. Zimmermann, E. Rief, M. Greupner, J. Laule, M. Knebel, F. Hamm, B. Dewey, M. (2012). DNA double-strand breaks as potential indicators for the biological effects of ionising radiation exposure from cardiac CT and conventional coronary angiography: a randomised, controlled study. *European Radiology*, 22, 1641-1650.

Gomolka, M. Oestreicher, U. Rößler, U. Samaga, D. Endesfelder, D. Lang, P. Neumaier, K. Belka, C. Niemeyer, M. Kiechle, M. Hasbargen, U. Hübener, C. Kirlum, HJ. Kulka, U. Rosenberger, A. Walsh, L. Baatout, S. Kesminiene, A. Lindholm, C. (2018). Age-dependent differences in DNA damage after in vitro CT exposure. *International Journal of Radiation Biology*, 94, 272-281.

Grudzenski, S. Kuefner, MA. Heckmann, MB. Uder. M. Lobrich, M. (2009). Contrast medium-enhanced radiation damage caused by CT examinations. *Radiology*, 253, 706-714.

Hatzi, VI. Terzoudi, GI. Paraskevopoulou, C. Makropoulos, V. Matthopoulos, DP. Pantelias, GE. (2006). The use of premature chromosome condensation to study in interphase cells the influence of environmental factors on human genetic material. *ScientificWorldJournal*, 25, 1174-1190.

Ho, PS. (2017). Structure of the Holliday junction: applications beyond recombination. *Biochemical Society Transactions*, 45, 1149-1158.

Kamakaka, RT. Biggins, S. (2005). Histone variants: deviants? *Genes and Development*, 19, 295-310.

Kaufmann, G. Sauer, R. Weber, W. (2011) Radiologie. 4. Auflage. München: Elsevier GmbH, Urban & Fischer.

Kirkwood, T. In Memoriam Robin Holliday. *Genetics*, 198, 423-424.

Kuefner, MA. Grudzenski, S. Schwab, SA. Azoulay, S. Heckmann, M. Heinrich, MC. Lobrich, M. Uder, M. (2009a). X-ray-induced DNA doublestrand breaks after angiographic examinations of different anatomic regions. *RöFo*, 181, 374-380.

Kuefner, MA. Grudzenski, S. Schwab, SA. Wiederseiner, M. Heckmann, M. Bautz, W. Lobrich, M. Uder, M. (2009b). DNA double-strand breaks and their repair in blood lymphocytes of patients undergoing angiographic procedures. *Investigative Radiology*, 44, 440-446.

Kuefner, MA. Hinkmann, FM. Alibek, S. Azoulay, S. Anders, K. Kalender, WA. Achenbach, S. Grudzenski, S. Lobrich, M. Uder, M. (2010a). Reduction of X-ray induced DNA double-strand breaks in blood lymphocytes during coronary CT angiography using high-pitch spiral data acquisition with prospective ECG-triggering. *Investigative Radiology*, 45, 182-187.

Kuefner, MA. Grudzenski, S. Hamann, J. Achenbach, S. Lell, M. Anders, K. Schwab, SA. Häberle, L. Lobrich, M. Uder, M. (2010b) Effect of CT scan protocols on x-ray-induced DNA double-strand breaks in blood lymphocytes of patients undergoing coronary CT angiography. *European Radiology*, 20, 2917-2924.

Kuefner, MA. (2012). X-ray induced DNA doublestrand breaks in coronary CT angiography: Comparison of sequential, low-pitch helical and high-pitch helical data acquisition. *European Journal of Radiology*, 81, 357-362.

Kuefner, MA. Brand, M. Engert, C. Kappey, H. Uder, M. Distel, LV. (2013). The effect of calyculin A on the dephosphorylation of the histone γ -H2AX after formation of X-ray-induced DNA double-strand breaks in human blood lymphocytes.

International Journal of Radiation Biology, 89, 424-432.

Kuefner, MA. Brand, M. Engert, C. Schwab, SA. Uder, M. (2015). Radiation Induced DNA Double-Strand Breaks in Radiology. *Rofo*, 187, 872-878.

Lin, S. Tashiro, S. (2018). Estimation of the effects of medical diagnostic radiation exposure based on DNA damage. *Journal of Radiation Research*, 59, 121-129.

Lobrich, M. Rief, N. Kuhne, M. Heckmann, M. Fleckenstein, J. Rübe, C. Uder, M. (2005). In vivo formation and repair of DNA double-strand breaks after computed tomography examinations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102, 8984-8989.

Lobrich, M. Rief, N. Kühne, M. Heckmann, M. Fleckenstein, J. Rübe, C. Uder, M. (2005). In vivo formation and repair of DNA-double-strand breaks after computed tomography examinations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102, 8984-8989.

Lobrich, M. Shibata, A. Beucher, A. Fisher, A. Ensminger, M. Goodarzi, AA. Barton, O. Jeggo, PA. (2010). γ H2AX foci analysis for monitoring DNA double-strand break repair: Strengths, limitations and optimization. *Cell Cycle*, 9, 662-669.

Loo, DT. (2011). In situ detection of apoptosis by the TUNEL assay: an overview of techniques. *Methods in Molecular Biology*, 682, 3-13.

Marshall, WA. (1983). Demographic changes and the need for health technology. *Journal of the Royal Society of Health*. 103, 222-226.

Mathews, JD. Forsythe, A. Brady, Zoe. Butler, MW. Goergen, SK. Byrnes, GB. Giles, GG. Wallace, AB. Anderson, PR. Guiver, TA. McGale, P. Cain, TM. Dowty, JG. Bickerstaffe, AC. Darby, SC. (2013). Cancer risk in 680 000 people exposed to computed tomography scans in childhood or adolescence: data linkage study of 11 million Australians. *BMJ*, 346, f2360.

May, MS. Brand, M. Wuest, W. Anders, K. Kuwert, T. Prante, O. Schmidt, D. Maschauer, S. Semelka, RC. Uder, M. Kuefner, MA. (2012). Induction and repair of DNA doublestrand breaks in blood lymphocytes of patients undergoing ^{18}F -FDG PET/CT examinations. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 39, 1712-1719.

Nobel Media (Hrsg.). (2014a). The Nobel Prize in Physics 1901. Nobelprice.org. URL:
http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/1901/ (21.05.2018).

Nobel Media (Hrsg.). (2014b). The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1979. Nobelprice.org. URL:
https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1979/ (21.05.2018).

Nobel Media (Hrsg.). (2014c). The Nobel Prize in Physics 1927. Nobelprice.org.

URL:

https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/1927/ (21.05.2018).

Österreichische Akademie der Wissenschaften (Hrsg.). (2013). Thema 04/2013:

Algorithmen für die Praxis. Johann Radon - Porträt eines berühmten

österreichischen Mathematikers. URL:

<https://www.oeaw.ac.at/mitglieder-kommissionen/themen-im-fokus/thema-des-monats/042013-algorithmen-fuer-die-praxis/johann-radon-portraet-eines-beruehmten-oesterreichischen-mathematikers/> (21.05.2018).

Parashar, V. Frankel, S. Lurie, AG. Rogina, B. (2008). The effects of age on radiation resistance and oxidative stress in adult *Drosophila melanogaster*.

Radiation Research, 169, 707-711.

Parizad, EG. Parizad, EG. Valizadeh, A. (2016). The Application of Pulsed Field Gel Electrophoresis in Clinical Studies. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 10, 1-4.

Pathe, C. (2011). *Nachweis von DNA-Doppelstrangbrüchen bei computertomographischen Untersuchungen - Einfluss von Kontrastmittelgabe*. Marburg: Klinik für Strahlendiagnostik Fachbereich Medizin, Philipps-Universität Marburg.

Pauwels, EK. Bourguignon, MH. (2012). Radiation dose features and solid cancer induction in pediatric computed tomography. *Medical Principles and Practice*, 21, 508-515.

Pearce, MS. Salotti, JA. Little, MP. McHugh, K. Lee, C. Kim, KP. Howe, NL. Ronckers, CM. Rajaraman, P. Sir Craft, AW. Parker, L. Berrington de Gonzales, A. (2012). Radiation exposure from CT scans in childhood and subsequent risk of leukaemia and brain tumours: a retrospective cohort study. *The Lancet*, 380, 499-505.

Piechowiak, EI. Peter, JF. Kleb, B. Klose, KJ. Heverhagen, JT. (2015). Intravenous Iodinated Contrast Agents Amplify DNA Radiation Damage at CT. *Radiology*, 275, 692-697.

Pöttsch, O. Rößger, F. (2015). Bevölkerung Deutschlands bis 2060. 13. koordinierte Bevölkerungsvorausberechnung. Wiesbaden: Statistisches Bundesamt.

Rao, KS. (2007). DNA repair in aging rat neurons. *Neuroscience*, 145, 1330-1340.

Reiser, M. Kuhn, FP. Debus, J. (2011) *Radiologie*. 3. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag AG.

Robert Koch-Institut (Hrsg.). (2015). *Gesundheit in Deutschland. Gesundheitsberichterstattung des Bundes, gemeinsam getragen von RKI und Destatis*. Berlin: Bundesministerium für Gesundheit.

Rothkamm, K. Lobrich, M. (2003). Evidence for a lack of DNA double-strand break repair in human cells exposed to very low x-ray doses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100, 5057-5062.

Rothkamm, K. Balroop, S. Shekhdar, J. Fernie, P. Goh, V. (2007). Leukocyte DNA damage after multi-detector row CT: a quantitative biomarker of low-level radiation exposure. *Radiology*, 242, 244-251.

Sahhugi, Z. Hasenan, SM. Jubri, Z. (2014). Protective effects of gelam honey against oxidative damage in young and aged rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Doi: 10.1155/2014/673628. Online-Publikation 19.11.2014.

Scheegerer, A. (2017). Current CT practice in Germany: Results and implications of a nationwide survey. *European Journal of Radiology*, 90, 114-128.

Schwab, SA. Brand, M. Schlude, IK. Wuest, W. Meier-Meitingner, M. Distel, L. Schulz-Wendtland, R. Uder, M. Kuefner, MA. (2013). X-ray induced formation of γ -H2AX foci after full-field digital mammography and digital breast tomosynthesis. *PloS One*, 8, e70660.

Seluanov, A. Mittelman, D. Pereira-Smith, OM. Wilson, JH. Gorbunova, V. (2004). DNA end joining becomes less efficient and more error-prone during cellular senescence. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101, 7624-7629.

Selvaratnam, J. Paul, C. Robaire, B. (2015). Male Rat Germ Cells Display Age-Dependent and Cell-Specific Susceptibility in Response to Oxidative Stress Challenges. *Biology of Reproduction*, 93, 72.

Sharma, S. (2007). Age-related nonhomologous end joining activity in rat neurons. *Brain Research Bulletin*, 73, 48-54.

Stagni, V. Cirotti, C. Barila, D. (2018). Ataxia-Telangiectasia Mutated Kinase in the Control of Oxidative Stress, Mitochondria, and Autophagy in Cancer: A Maestro With a Large Orchestra. *Frontiers in Oncology*, 16, 8-73.

Statistisches Bundesamt (Hrsg.). (2016). *Ältere Menschen in Deutschland und der EU*. Wiesbaden.

Statistisches Bundesamt (Hrsg.). (2017). *Statistisches Jahrbuch 2017. Deutschland und Internationales*. Wiesbaden.

Statistisches Bundesamt (Hrsg.). (2018a). Geburtenanstieg setzte sich 2016 fort. Pressemitteilung Nr 115 vom 28.03.2018. URL: https://www.destatis.de/DE/PresseService/Presse/Pressemitteilungen/2018/03/PD18_115_122.html (22.05.2018).

Statistisches Bundesamt (Hrsg.). (2018b). Lebenserwartung für Jungen und Mädchen steigt weiter an. Pressemitteilung Nr. 108 vom 26.03.2018 (Korrektur im zweiten Absatz). URL:

https://www.destatis.de/DE/PresseService/Presse/Pressemitteilungen/2018/03/PD18_108_12621.html (22.05.2018).

Stehli, J. Fuchs, TA. Ghadri, JR. Gaemperli, O. Fiechter, M. Kaufmann, PA. (2014). Antioxidants prevent DNA doublestrand breaks from x-ray-based cardiac examinations: a randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. *Journal of the American College of Cardiology*, 64, 117-118.

Stephan, G. Schneider, K. Panzer, W. Walsh, L. Oestreicher, U. (2007). Enhanced yield of chromosome aberrations after CT examinations in paediatric patients. *International Journal of Radiation Biology*, 83, 281-287.

Streitmatter, SW. Stewart, RD. Jenkins, PA. Jevremovic, T. (2017). DNA double strand break (DSB) induction and cell survival in iodine-enhanced computed tomography (CT). *Physics in Medicine and Biology*, 62, 6164-6184.

Syed, A. Tainer, JA. (2018). The MRE11-RAD50-NBS1 Complex Conducts the Orchestration of Damage Signaling and Outcomes to Stress in DNA Replication and Repair. *Annual Review of Biochemistry*, 87, 263-294.

Tao, SM. Li, X. Schoepf, UJ. Nance, JW Jr. Jacobs, BE. Zhou, CS. Gu, HF. Lu, MJ. Lu, GM. Zhang, LJ. (2018). Comparison of the effect of radiation exposure from dual-energy CT versus single-energy CT on double-strand breaks at CT pulmonary angiography. *European Journal of Radiology*, 101, 92-96.

United Nations (Hrsg.). (2017). World Population Prospects: The 2017 Revision. Key Findings and Advance Tables. New York: UN, Department of Economic and Social Affairs, Population Division. File POP/5: Median age by region, subregion and country, 1950-2100 (years). URL: <https://esa.un.org/unpd/wpp/Download/Standard/Population/> (22.05.2018).

United Nations (Hrsg.). (2018). *Unscear Report 2017, Sources. Effects and Risks of Ionizing Radiation*. New York: United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation.

Vandevoorde, C. Franck, C. Bacher, K. Breysen, L. Smet, MH. Ernst, C. De Backer, A. Van De Moortele, K. Smeets, P. Thierens, H. (2015a). γ -H2AX foci as in vivo effect biomarker in children emphasize the importance to minimize x-ray doses in paediatric CT imaging. *European Radiology*, 25, 800-811.

Vandevoorde, C. Gomolka, M. Roessler, U. Samaga, D. Lindholm, C. Fernet, M. Hall, J. Pernot, E. El-Saghire, H. Baatout, S. Kesminiene, A. Thierens, H. (2015b). EPI-CT: in vitro assessment of the applicability of the γ -H2AX-foci assay as cellular biomarker for exposure in a multicentre study of children in diagnostic radiology. *International Journal of Radiation Biology*, 91, 653-663.

Vyjayanti, VN. Rao, KS. (2006). DNA double strand break repair in brain: reduced NHEJ activity in aging rat neurons. *Neuroscience Letters*, 393, 18-22.

Wang, L. Li, Q. Wang, XM. Hao, GY. Jie-Bao. Hu, S. Hu, CH. (2017). Enhanced radiation damage caused by iodinated contrast agents during CT examination. *European Journal of Radiology*, 92, 72-77.

Winslow, T. (2015). DNA Structure. National Cancer Institute. URL:
<https://visualsonline.cancer.gov/details.cfm?imageid=10062> (22.05.2018).

Anhang

| Patienten-nummer | Alter | Geschlecht | Art der CT-Untersuchung | DLP [mGy * cm] |
|------------------|-------|------------|-------------------------|----------------|
| 1 | 20 | m | Thorax u. Abd. | 2554 |
| 2 | 24 | m | Extremitäten-CT | 189 |
| 3 | 25 | m | Abdomen-CT | 222 |
| 4 | 25 | m | Abdomen-CT | 1070 |
| 5 | 26 | w | Extremitäten-CT | 85 |
| 6 | 31 | m | Thorax-CT | 2050 |
| 7 | 36 | m | Thorax-CT | 297 |
| 8 | 38 | m | Abdomen-CT | 677 |
| 9 | 38 | m | Extremitäten-CT | 362 |
| 10 | 39 | m | CCT | 55 |
| 11 | 39 | w | Pelvis-CT | 198 |
| 12 | 45 | m | CCT | 54 |
| 13 | 46 | m | Angio-CT | 339 |
| 14 | 46 | w | Abdomen-CT | 1004 |
| 15 | 49 | m | Thorax-CT | 932 |
| 16 | 51 | m | Angio-CT | 999 |
| 17 | 55 | m | Abdomen-CT | 545 |
| 18 | 56 | m | Abdomen-CT | 423 |
| 19 | 56 | w | Thorax-CT | 216 |
| 20 | 57 | w | Thorax-CT | 319 |
| 21 | 57 | m | Thorax-CT | 569 |
| 22 | 57 | m | Extremitäten-CT | 252 |
| 23 | 59 | m | Abdomen-CT | 350 |
| 24 | 61 | w | Thorax-CT | 319 |
| 25 | 62 | w | Thorax-CT | 390 |
| 26 | 62 | w | Thorax-CT | 220 |
| 27 | 63 | w | Thorax-CT | 518 |

| | | | | |
|----|----|---|-----------------|------|
| 28 | 63 | m | Thorax-CT | 388 |
| 29 | 64 | m | Thorax-CT | 231 |
| 30 | 64 | m | Thorax-CT | 325 |
| 31 | 65 | m | Thorax-CT | 301 |
| 32 | 65 | w | Thorax-CT | 246 |
| 33 | 67 | m | Extremitäten-CT | 243 |
| 34 | 67 | w | Thorax- u. Abd. | 812 |
| 35 | 69 | m | Thorax-CT | 230 |
| 36 | 70 | m | Thorax-CT | 355 |
| 37 | 70 | m | CCT | 900 |
| 38 | 70 | m | Thorax-CT | 558 |
| 39 | 73 | m | Thorax-CT | 326 |
| 40 | 75 | m | CCT | 900 |
| 41 | 77 | m | Thorax-CT | 1953 |
| 42 | 77 | m | Thorax-CT | 717 |
| 43 | 79 | w | Extremitäten-CT | 78 |
| 44 | 80 | m | Thorax-CT | 246 |
| 45 | 80 | m | Thorax-CT | 247 |
| 46 | 83 | m | Thorax-CT | 318 |
| 47 | 87 | m | Extremitäten-CT | 233 |

Tabelle 23: Patientendaten.

Gezeigt sind jeweils Alter, Geschlecht, Art der CT-Untersuchung und Dosislängenprodukt.

Abkürzung: Thorax- u. Abd. bedeutet Thorax- und Abdomen-CT, CCT bedeutet craniale-CT.

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|-------------------|---|
| * | Multiplikation |
| % | Prozent |
| µl | Mikroliter |
| °C | grad Celsius |
| ATM | Proteinkinase ataxia teleangiectasia mutated |
| ca. | circa |
| cm | Zentimeter |
| C | Coulomb |
| C/kg | Coulomb pro Kilogramm |
| CCT | craniale Computertomographie |
| CT | Computertomographie |
| CTDI vol | computed Tomography Dose Index, volumenbezogener CT-Dosisindex |
| D-Loop | displacement loop |
| DAPI | 4',6-Diamidino-2-phenylindolehydrochloride |
| DLP | Dosislängenprodukt |
| DNA | Desoxyribonucleic acid, Desoxyribonukleinsäure |
| Dr. med. | Doctor medicinae, Doktor der Medizin |
| Dr. rer. physiol. | Doctor rerum physiologiae, Doktor der Humanbiologie |
| e | Elektron |
| e.V. | eingetragener Verein |
| et al. | et alia, und andere |
| eV | Elektronenvolt |
| FBS | fetal bovine serum, fetales bovines Serum |
| g | Gramm |

| | |
|-------------|--|
| gGmbH | gemeinnützige Gesellschaft mit beschränkter Haftung |
| G | Gewichtskraft der Erde in Newton (N) |
| G | Gauge |
| GmbH | Gesellschaft mit beschränkter Haftung |
| Gy | Gray |
| h | Stunde |
| HE | Hounsfield-Einheit |
| in vitro | im Glas/außerhalb des Organismus |
| in vivo | im lebendigen/innerhalb des Organismus |
| keV | Kiloelektronenvolt |
| kg | Kilogramm |
| kV | Kilovolt |
| kVp | Kilovolt peak |
| LNT Modell | Linear No-Threshold Modell |
| LSM | Lymphocyte Separation Medium, Lymphozyten-Trennmedium |
| mg | Milligramm |
| mGy | Milligray |
| min | Minute |
| ml | Milliliter |
| mSv | Millisievert |
| MeV | Megaelektronenvolt |
| MRN-Komplex | heterotrimerer Proteinkomplex |
| N | Newton |
| PBS | Phosphate Buffered Saline, phosphatgepufferte Salzlösung |
| PET-CT | Positronen-Emissions-Tomographie-CT |
| Prof. | Professor |

| | |
|---------------|--|
| ROS | reactive oxygen species, reaktive Sauerstoffspezies |
| s | Sekunde |
| Sv | Sievert |
| t | Time, Zeit |
| TUNEL-Methode | TdT-mediated dUTP-biotin nick end labeling |
| V | Volt |
| x | Variable x |
| Y | gamma |
| z.B. | zum Beispiel |

Zusammenfassung

Der demographische Wandel mit der Zunahme der Lebenserwartung in Deutschland und anderen Industriestaaten ist zu einem großen Teil durch medizinischen Fortschritt bedingt. Die jährliche Strahlendosis, der ein Mensch in Deutschland ausgesetzt ist, wird durch natürliche und zivilisatorische Strahlung hervorgerufen. Den größten Anteil an der mittleren jährlichen Strahlendosis hat die medizinische Anwendung zivilisatorischer Strahlung. Diagnostische computertomographische Untersuchungen stellen hier die größte Quelle für ionisierende Strahlung dar. Die größte Anzahl von CT-Untersuchungen erfolgt an Menschen im höheren Lebensalter. Als schwerwiegendste negative Folge der Einwirkung ionisierender Strahlung auf menschliches Gewebe kann ein Doppelstrangbruch der DNA entstehen. Wird ein DNA-Doppelstrangbruch nicht erkannt und nicht oder nicht ausreichend repariert, bzw. ein programmierter Zelltod als Apoptose eingeleitet, kann es zu einer Mutation der Erbinformation und ggf. zu einer malignen Entartung mit der Entstehung von Krebs kommen. Zum Nachweis von DNA-Doppelstrangbrüchen in vivo im Niedrigdosisbereich von mGy, wie er bei CT-Untersuchungen vorliegt, ist die γ -H2AX-Methode der Goldstandard. Bedingt durch einen DNA-Doppelstrangbruch nach der Einwirkung ionisierender Strahlung wird die Untergruppe H2AX eines Histonproteins des DNA-Moleküls phosphoryliert. Das entstandene phosphorylierte Histon γ -H2AX kann mittels eines spezifischen Antikörpers markiert und mittels eines zweiten fluoreszierenden Antikörpers unter dem Fluoreszenzmikroskop sichtbar gemacht und erfasst werden. In früheren Studien wurde gezeigt, dass ein im Fluoreszenzmikroskop nachweisbarer Focus genau einem DNA-Doppelstrangbruch entspricht und dass die Reduktion von Foci der Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen entspricht. Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit wurde die Entstehung und der zeitliche Verlauf über 24 Stunden von DNA-Doppelstrangbrüchen als γ -H2AX-Foci nach CT-Untersuchungen in vivo untersucht. Im zweiten Teil wurde der Einfluss des Alters

auf die Entstehung und die Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen untersucht. Es erfolgten bei 47 Patienten, welche einer CT-Untersuchung aus medizinischer Indikation unterzogen wurden, Blutentnahmen vor der CT-Untersuchung, 5 Minuten nach-, 1 Stunde nach-, 2 Stunden nach- und 24 Stunden nach der CT-Untersuchung. Aus den Blutproben wurden die Lymphozyten isoliert und mittels der γ -H2AX-Methode die DNA-Doppelstrangbrüche bestimmt. Es zeigt sich bei allen Patienten ein deutlicher Anstieg der DNA-Doppelstrangbrüche 5 Minuten nach der CT-Untersuchung. Es kann bestätigt werden, dass DNA-Doppelstrangbrüche in vivo im Niedrigdosisbereich durch die γ -H2AX-Methode erfolgreich nachgewiesen werden können. Die Anzahl der Foci entspricht dem Bereich der Foci in vorherigen Studien. Im Verlauf zeigt sich bei allen Patienten ein kontinuierlicher Rückgang der Foci als Nachweis einer erfolgten Reparatur der DNA-Doppelstrangbrüche. Um einen möglichen Einfluss des Patientenalters auf die Entstehung und die Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen zu untersuchen, wurden die Patienten der Studie in 7 Altersgruppen im Alter von 20 bis 89 Jahre eingeteilt. Vor der CT-Untersuchung imponiert eine vermehrte Anzahl von DNA-Doppelstrangbrüchen in den Altersgruppen mit den ältesten Patienten im Alter von 70 bis 79 Jahre und im Alter von 80 bis 89 Jahre. Zum Zeitpunkt 5 Minuten nach der CT-Untersuchung zeigen die Patienten im mittleren Alter von 40 bis 49 Jahre die meisten DNA-Doppelstrangbrüche. Zum Zeitpunkt 24 Stunden nach der CT-Untersuchung werden bei den jüngsten Patienten im Alter von 20 bis 29 Jahren die meisten DNA-Doppelstrangbrüche nachgewiesen.

Summary

The demographic change due to the raised expectation of life in Germany and other industrial states is to a high degree a result of medical progress. The annual radiation level that a human in Germany is exposed to is induced by natural and civilisation radiation. The greatest part of the average annual radiation level is caused by medical use of civilisation radiation. Diagnostic computed tomography examinations represent the biggest source of ionizing radiation. People of an advanced age have the highest amount of CT Scans taken. The worst consequence that can occur to human tissue under the influence of ionizing radiation is a double-strand break of the DNA. If a double-strand break is not detected or not sufficiently repaired, or through a controlled cell death induced as apoptosis destroyed, this break can lead to a mutation of the genetic information and possibly to malignant degeneration with the genesis of cancer. For the detection of DNA double-strand breaks in vivo in the low dose radiation range of mGy, as by CT examinations, the γ -H2AX-Method is the golden standard. A DNA double-strand break after the influence of ionizing radiation causes the phosphorylation of the under group H2AX of a histone protein of the DNA-molecule. The originated phosphorylated histone γ -H2AX can be marked through a specific antibody, and through a second fluorescent antibody be visualised and determined under the fluorescence microscope. In former studies it was shown that one detected focus in the fluorescent microscope corresponds exactly with one DNA double-strand break, and that the reduction of foci corresponds with the repair of DNA double-strand breaks. In the first part of the present dissertation the genesis and the development of DNA double-strand breaks over 24 hours, as γ -H2AX-Foci after a CT Examination in vivo, was investigated. In the second part the influence of age to the genesis and repair of DNA double-strand breaks was investigated. It took place with 47 patients who were subjected to a CT examination for medical reasons. Blood samples were taken before the CT

examination and 5 minutes, 1 hour, 2 hours and 24 hours after the CT examination. The lymphocytes were isolated from the blood samples, and with the γ -H2AX-Method the DNA double-strand breaks identified. In every patient it showed an explicit increase of DNA double-strand breaks 5 minutes after the CT examination. It confirmed that DNA double-strand breaks in vivo in low dose radiation range can be detected successfully through the γ -H2AX method. The number of foci correlate with the range of earlier studies. The study shows in progression a continues decrease of foci in every patient as evidence of repair of the DNA double-strand breaks. To study the potential influence of age to the genesis and reparation of DNA double-strand breaks the patients were grouped in 7 age groups, aged from 20 to 89 years. Before the CT examination an outstandingly increased number of DNA double-strand breaks were found in the groups with the oldest patients, aged from 70 to 79 years and from 80 to 89 years. 5 minutes after the CT examination the patients aged from 40 to 49 years showed the most DNA double-strand breaks. 24 hours after the CT examination the most DNA double-strand breaks were proven in the youngest age group from 20 to 29 years.

Verzeichnis der akademischen Lehrer

Meine akademischen Lehrer waren die nachfolgenden Damen und Herren, denen ich an dieser Stelle herzlich danken möchte:

Aigner, Alter, Al-Fakhri, Arnold, Aumüller, Bals, Barth, Basler, Bauer, Baum, Baumann, Berger, Bien, Boekhoff, Buch, Burchert, Cetin, Christiansen, Czubayko, Daut, del Rey, Doll, Dominguez, Donner-Banzhoff, Eilers, Engenhardt-Cabillic, Fuchs-Winkelmann, Funck, Geks, Gemsa, Geus, Görg, Gress, Grimm, Gudermann, Grundmann, Happle, Hasilik, Hellwig, Herrmann-Lingen, Hertl, Herzum, Heverhagen, Hoffken, Hofman, Horle, Hoyer, Junclas, Kann, Kern, Kill, Klenk, Klose, Koehler, Kohler, Koolman, Krieg, Kroll, Kuhlmann, Lang, Lemansky, Liss, Loff, Lohoff, Löffler, Maier, Maisch, Mandrek, Martin, Mennel, Mederos, Mittag, Moll, Moosdorf, Mueller, Neubauer, Nockher, Oeffner, Oertel, Pagenstecher, Plant, Printz, Rausch, Renz, Richter, Rothmund, Röhm, Röper, Ruchholtz, Schafer, Schafer, Schmitt, Schofer, Sesterhenn, Seifert, Seitz, Sommer, Stief, Strauch, Suske, Steininger, Sundermeyer, Voigt Vogelmeier, Wagner, Weihe, Werner, Westermann, Wulf, Yu, Zemlin,

Danksagung

Ganz besonders danke ich Herrn Prof. Dr. med. Dr. rer. physiol. Johannes T. Heverhagen für die Möglichkeit, meine Promotionsarbeit in seiner Arbeitsgruppe durchführen zu dürfen und für die Unterstützung während meiner Arbeit.

Den Herren Prof. Dr. med. Klaus Jochen Klose und Prof. Dr. med. Andreas H. Mahnken danke ich für die Ermöglichung meiner Promotionsarbeit in der radiologischen Abteilung der Philipps-Universität Marburg.

Frau Beate Kleb möchte ich für die tatkräftige Unterstützung bei der Verarbeitung der Proben und der Immunfluoreszenzfärbung sehr danken.

Ebenso danke ich allen Mitarbeitern der Abteilung für Radiologie für ihre Hilfe bei der Patientenauswahl und der Probengewinnung.

Den Mitarbeitern der Klinik für Nuklearmedizin möchte ich herzlich für die Ermöglichung der Mitbenutzung Ihres Labors und die Unterstützung danken. Besonderer Dank gilt hier Frau Ursula Cramer für stets freundliche Auskünfte und Hilfestellungen.

Mein besonderer Dank gilt allen ehemaligen, aktuellen und zukünftigen Mitgliedern und Unterstützern des AS Pirin.

Nicht zuletzt möchte ich allen Patienten für die Teilnahme an der Untersuchung danken. Ohne sie wäre mir die Erstellung dieser Arbeit nicht möglich gewesen.